



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGIA

ESPECIES DE LEGUMINOSAS COMO FITORREMEDIASDORAS EN SUELOS CONTAMINADOS

NANCY DE LA CRUZ LANDERO

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLOS, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2010

La presente tesis, titulada: **Especies de leguminosas como fitorremediadoras en suelos contaminados**, realizada por la alumna: **Nancy De la Cruz Landero**, bajo la dirección del Consejo Particular Indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

EDAFOLOGÍA

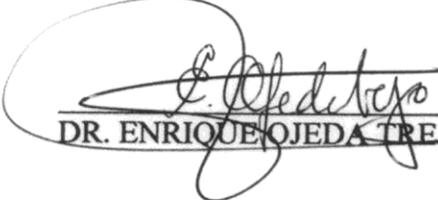
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: 
DR. VICENTE ESPINOSA HERNANDEZ

ASESOR: 
DR. ANTONIO TRINIDAD SANTOS

ASESOR: 
DRA. EMMA GUEVARA CARRIO

ASESOR: 
DR. MIGUEL ANGEL LOPEZ LOPEZ

ASESOR: 
DR. ENRIQUE OJEDA TREJO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Junio de 2010

ESPECIES DE LEGUMINOSAS COMO FITORREMIADORAS EN SUELOS CONTAMINADOS

Nancy De la Cruz Landero, Dr.
Colegio de postgraduados, 2010

La extracción de petróleo puede ser una fuente de contaminación durante la perforación del pozo y la extracción del petróleo por accidentes, derramas, goteos de las líneas de conducción que se tienen durante el proceso de extracción, contaminando el área que rodea a los pozos. Como resultado el suelo es contaminado con metales pesados y otros productos derivados del petróleo. La remediación del suelo con plantas (fitoremediación) es una tecnología no-destructiva y económica *in situ* que usa plantas para remover, degradar o estabilizar contaminantes en el suelo, esta tecnología tiene un gran potencial para remover metales pesados del suelo. El objetivo de esta tesis fue evaluar el potencial de cinco leguminosas tres de ellas nativas del área templada de México y dos de una región tropical (*Lupinus montanus*, *Lupinus leptophyllus*, *Lupinus versicolor* y *Clitoria ternatea*, *Leucaena leucocephala* respectivamente). El suelo para este experimento se colectado a diferentes distancias de la fuente de contaminación en un campo petróleo actualmente en producción del Estado de Tabasco, México. Los objetivos de la investigación fueron 1). Evaluar diferentes procesos de escarificación sobre la semilla y su efecto sobre la germinación. 2). Evaluar la capacidad de fitoremediación de metales pesados de 5 especies de Leguminosas 3). Evaluar la capacidad de extracción de las especies para la extracción de metales pesados a diferentes distancias de la fuente de contaminación 4). Determinar la acumulación de metales pesados en hojas, tallo y raíz. Los parámetros evaluados fueron % de germinación, acumulación de Cd, Ni, Cu, Zn y Pb, en plantas y características agronómicas como altura, peso seco y fresco de materia seca y fresca en plantas. La escarificación mecánica fue la mejor en todas las especies estudiadas. El experimento se llevo a cabo en los invernaderos del colegio de postgraduados con diseño factorial con 6 repeticiones. Los resultados mostraron que la parte de la planta con mayor contenido de metales pesados fue en la raíz y la planta con mayor contenido y concentración de metales fue la especie tropical *L. leucocephala* y *L. leptophyllus* de clima templado. Estas especies pueden considerarse como una buena alternativa para remover metales pesados de suelos contaminados que rodean a los pozos petroleros.

Palabras clave: *Lupinus*, *Leucaena*, *Clitoria*, Germinación, Fitoextracción, Metales pesados.

LEGUMINOUS SPECIES LIKE FITORREMEDICATION IN CONTAMINATED SOILS

Nancy De la Cruz Landero, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2010

Oil extraction can be source of pollution during the drilling and throughout the extraction process by accidents, spillages and leaking of pipelines in the areas surrounding the oil wells. As a result large quantities of soil have been contaminated with heavy metals and other oil products. Remediation of soil with plants (phytoremediation) is a non-destructive and economic *in situ* technology that uses plants to remove, degrade or stabilize contaminants in soil with great potential for removal heavy metals from soil. The objective of this thesis was to evaluate the potential of five legumes two native of tropical and three from temperate areas of Mexico (*Lupinus montanus*, *Lupinus leptophyllus*, *Lupinus versicolor* and *Clitoria ternatea*, *Leucaena leucocephala* respectively) The soil for the experiment was collected at different distances from the source of contamination in an oil drill under production in the state of Tabasco, Mexico. The objectives of the research were: 1) To evaluate different scarification process on the seed and its effect on germination. 2) To evaluate the capacity of phytoremediation of the heavy metals of the lupines species 3). To evaluate the capacity of the species for the extraction at different distances from the oil well 4). To determinate the accumulation of heavy metals in leaves, stem and roots. The parameters evaluated were germination, accumulation of Cd, Ni, Cu, Zn and Pb in plants and agronomic characteristics such as height, dry and fresh weight in the plant and root. The study for germination was in the laboratory and the response to scarification was positive in all species studied. For the contamination and accumulation in plants the study was conducted in a greenhouse. The experimental design was a completely randomized block with 6 replications. The results shows that the roots were the part of the plant were the higher amount of heavy metals were accumulated and that the plants with higher content and concentration of heavy metals were from the tropical specie *L. leucocephala* and for the temperate area it was *L. leptophyllus*. These species can be considered as a good alternative for removing heavy metals in contaminated soils and for the phytostabilization and vegetation of contaminated soils in oil well surroundings.

Palabras clave: *Lupinus*, *Leucaena*, *Clitoria*, Germination, Fitoextracción, Heavy metals.

DEDICATORIA

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño.

A ti DIOS que me diste la oportunidad de vivir y llegar a formar una familia maravillosa.

A mi esposo Angel Alderete Chávez por estar siempre a mi lado en los momentos más difíciles, por su amor, paciencia, comprensión y ser la fuente de mi inspiración y motivación para superarme cada día más, sin lo que hubiese sido imposible lograr terminar mis estudios.

A mis padres por confiar en mí y darme su amor.

A mis hermanos, sobrinos y tía por ser parte de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el otorgamiento de la beca numero 101531, para estudios de doctorado.

Al Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo, por permitirme formar parte de su selecto grupo de estudiantes.

A mi consejo particular, integrado por: Dr. Vicente Espinosa Hernández como consejero y los Doctores: Emma Guevara Carrió, Antonio Trinidad Santos, Miguel Angel López López y Enrique Ojeda Trejo como asesores por su paciencia y dedicación para conmigo durante el desarrollo de mis estudios y la asesoría de la presente tesis.

Al Dr. Angel Alderete Chávez, por su apoyo incondicional y asesoría en la realización de la tesis y estudios de doctorado.

Al M. C. Francisco Landeros, al M. C. Jaime Cruz, pos un apoyo para la realización de los análisis de laboratorio.

A la señora Gloria Araceli Espejel Estrada, secretaria del área de fertilidad, por su disponibilidad para brindarme su apoyo y orientación en la realización de todos mis tramites administrativos.

A la señora María Remedios Hernández y Jacqueline Flores Sifuentes, secretarias de la oficina de enlace de Edafología, por su apoyo y disponibilidad en la realización de todos mis trámites administrativos.

A la estudiante Adriana Paredes Gonzales por su apreciable ayuda en la elaboración de los mapas y a los señores: José Raymundo Pineda Vivar, Juan Rendón Cano, Uriel Jiménez Gallegos y José Luis García Viana, por su valiosa ayuda durante los trabajos de invernadero, así como en la preparación de las muestras de suelo, sustratos y plantas.

CONTENIDO

	Pagina
Índice de cuadros	v
Índice de figuras	vii
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
2.1. Historia de la industria petrolera en México	
3	
2.2. Características botánicas y ecología de las especies de leguminosas	
5	
2.2.1. <i>Clitoria ternatea</i> L.	5
2.2.2. <i>Lupinus leptophyllus</i> Schlecht & Cham.	6
2.2.3. <i>Lupinus montanus</i> HBK.	6
2.2.4. <i>Lupinus versicolor</i> Sweet.	7
2.2.5. <i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit.	7
2.3. Escarificación de semillas	
8	
2.4. El suelo	10
2.5. Metales pesados	10
2.6. Características de los metales pesados (Cadmio, Cobre, Níquel, Plomo y Zinc)	
12	
2.6.1. Cadmio	12
2.6.2. Cobre	12
2.6.3. Níquel	
12	
2.6.4. Plomo	12
2.6.5. Zinc	12
2.7. Fuentes de metales pesados	13

2.8. Efectos tóxicos de los metales pesados en plantas	
14	
2.9. Técnicas de remediación de suelos contaminados	
16	
2.10. Fitorremediación	
17	
2.11. Mecanismos y fases de la fitorremediación	
18	
2.11.1. Fitoextracción	
18	
2.11.2. Rizofiltración	
18	
2.11.3. Fitoestimulación	
18	
2.11.4. Fitoestabilización	
18	
2.11.5. Fitovolatilización	
18	
2.11.6. Fitodegradación	
18	
2.12. La fitorremediación como estrategia de recuperación de suelos contaminados	
19	
III. OBJETIVOS E HIPOTESIS	31
3.1. Objetivos	31
3.2. Hipótesis	
31	
IV. MATERIALES Y METODOS	32
4.1. Análisis de los suelos	
34	

4.2. Germinación de semillas	
34	
4.3. Evaluación de elementos pesados en plantas	
35	
4.4. Análisis estadístico	
36	
V. RESULTADOS	37
5.1. Escarificación y germinación de cinco leguminosas	
37	
5.2. Concentración de metales pesados en plantas de leguminosas creciendo en diferentes sustratos bajo condiciones de invernadero	40
5.2.1. Concentración de Cu en plantas de cinco leguminosas sembradas en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero	40
5.2.2. Concentración de Zn en plantas de cinco leguminosas sembradas en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero	41
5.2.3. Concentración de Pb en plantas de cinco leguminosas sembradas en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero	43
5.2.4. Concentración de Cd en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero	44
5.2.5. Concentración de Ni en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero	46
5.3. Contenido de metales pesados en plantas de leguminosas creciendo en diferentes sustratos bajo condiciones de invernadero	47
5.3.1. Contenido de Cu en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero	47
5.3.2. Contenido de Zn en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero	49
5.3.3. Contenido de Pb en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero	50
5.3.4. Contenido de Cd en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos	

(A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero	51
5.3.5. Contenido de Ni en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero	53
5.4. Incremento en altura en plantas de <i>L. leptophyllus</i> , <i>L. montanus</i> , <i>L. versicolor</i> , <i>L. leucocephala</i> y <i>C. ternatea</i> en tres sustratos con diferentes niveles de contaminación (A=20, B=50, C=100m) bajo condiciones de invernadero	55
5.5. Incremento en longitud de raíces en plantas de <i>L. leptophyllus</i> , <i>L. montanus</i> , <i>L. versicolor</i> , <i>L. leucocephala</i> y <i>C. ternatea</i> en tres sustratos con diferentes niveles de contaminación bajo condiciones de invernadero	56
5.6. Peso fresco de plantas de <i>L. leptophyllus</i> , <i>L. montanus</i> , <i>L. versicolor</i> , <i>L. leucocephala</i> y <i>C. ternatea</i> en tres sustratos con diferentes niveles de contaminación bajo condiciones de invernadero	57
5.7. Peso seco de plantas de <i>L. leptophyllus</i> , <i>L. montanus</i> , <i>L. versicolor</i> , <i>L. leucocephala</i> y <i>C. ternatea</i> en tres sustratos con diferentes niveles de contaminación bajo condiciones de invernadero	59
VI. DISCUSION	61
VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
1. Conclusiones	67
2. Recomendaciones	69
VIII. LITERATURA CITADA	70
ANEXOS	81
ANEXO I. Características químicas del suelo utilizado en el experimento obtenido a tres distancias A (20m), B (50m) y C (100m) a partir de un pozo de extracción de petróleo	82
ANEXO II. Análisis de varianza y pruebas de comparación de medias para todos los	

factores y para todas las variables evaluadas en este trabajo de investigación

84

ANEXO III. Imágenes del proceso de investigación ESPECIES DE LEGUMINOSAS
COMO FITORREMEDIAS EN SUELOS CONTAMINADOS 119

ANEXO IV. Resultados de la concentración de Cu, Zn, Pb, Cd y Ni en plantas de
Lupinus sp creciendo en tres sustratos colectados a diferentes distancias de la fuente de
contaminación (A=20, B=50 y C=100m) con un diseño completamente al azar con 5
repeticiones para los tres tratamientos aplicados bajo condiciones de invernadero 122

ANEXO V. Artículo publicado como parte de los alcances de esta investigación
124

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Germinación de cinco leguminosas en tres sustratos diferentes (A: 20m, B: 50 y C: 100m) y siete tratamientos de escarificación, bajo condiciones de invernadero	38
Cuadro 2. Análisis de varianza para la germinación de cinco especies de leguminosas en tres sustratos y siete tratamientos de escarificación	38
Cuadro 3. Análisis de varianza para concentración de Cu en cinco especies de leguminosas (<i>L. versicolor</i> , <i>L. leptophyllus</i> , <i>L. montanus</i> , <i>L. leucocephala</i> , <i>C. Ternatea</i>)	40
Cuadro 4. Análisis de varianza para concentración de Zn en cinco especies de leguminosas (<i>L. versicolor</i> , <i>L. leptophyllus</i> , <i>L. montanus</i> , <i>L. leucocephala</i> , <i>C. Ternatea</i>)	42
Cuadro 5. Análisis de varianza para concentración de Pb en cinco especies de leguminosas (<i>L. versicolor</i> , <i>L. leptophyllus</i> , <i>L. montanus</i> , <i>L. leucocephala</i> , <i>C. Ternatea</i>)	43
Cuadro 6. Análisis de varianza para concentración de Cd en cinco especies de leguminosas (<i>L. versicolor</i> , <i>L. leptophyllus</i> , <i>L. montanus</i> , <i>L. leucocephala</i> , <i>C. Ternatea</i>)	45
Cuadro 7. Análisis de varianza para concentración de Ni en cinco especies de leguminosas (<i>L. versicolor</i> , <i>L. leptophyllus</i> , <i>L. montanus</i> , <i>L. leucocephala</i> , <i>C. Ternatea</i>)	46
Cuadro 8. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para la fitoextracción de metales en cinco especies de leguminosas en tres sustratos	47
Cuadro 9. Análisis de varianza para contenido de Cu en cinco especies de leguminosas (<i>L. versicolor</i> , <i>L. leptophyllus</i> , <i>L. montanus</i> , <i>L. leucocephala</i> , <i>C. Ternatea</i>)	48
Cuadro 10. Análisis de varianza para contenido de Zn en cinco especies de leguminosas (<i>L. versicolor</i> , <i>L. leptophyllus</i> , <i>L. montanus</i> , <i>L. leucocephala</i> , <i>C. Ternatea</i>)	49
Cuadro 11. Análisis de varianza para contenido de Pb en cinco especies de leguminosas	

<i>(L. versicolor, L. leptophyllus, L. montanus, L. leucocephala, C. Ternatea)</i>	51
Cuadro 12. Análisis de varianza para contenido de Cd en cinco especies de leguminosas <i>(L. versicolor, L. leptophyllus, L. montanus, L. leucocephala, C. Ternatea)</i>	52
Cuadro 13. Análisis de varianza para contenido de Ni en cinco especies de leguminosas <i>(L. versicolor, L. leptophyllus, L. montanus, L. leucocephala, C. Ternatea)</i>	53
Cuadro 14. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para la fitoextracción de cinco metales en diferentes partes de plantas de cinco especies de leguminosas	54

INDICE DE FIGURAS

	Pagina
Figura 1. Campo petrolero ubicado en el municipio de Centla, Tabasco	33
Figura 2. Esquema de muestreo de suelo	33
Figura 3. Pruebas de tukey ($\alpha=0.05$) para siete tratamientos de escarificación	37
Figura 4. Pruebas de tukey ($\alpha=0.05$) para germinación de semillas en cinco especies de leguminosas	39
Figura 5. Pruebas de tukey ($\alpha=0.05$) para la germinación en semillas de cinco especies de leguminosas	39
Figura 6. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para la concentración de Cu en plantas de cinco especies de leguminosas	41
Figura 7. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para la concentración de Zn en plantas de cinco especies de leguminosas	42
Figura 8. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para la concentración de Pb en plantas de cinco especies de leguminosas	44
Figura 9. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para la concentración de Cd en plantas de cinco especies de leguminosas	45
Figura 10. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para concentración de Ni en plantas de cinco especies de leguminosas	47
Figura 11. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para contenido de Cu en plantas de cinco especies de leguminosas	48
Figura 12. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para contenido de Zn en plantas de cinco especies de leguminosas	50
Figura 13. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para contenido de Pb en plantas de cinco especies de leguminosas	51
Figura 14. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para contenido de Cd en plantas de cinco especies de leguminosas	52
Figura 15. Prueba de tukey ($\alpha=0.05$) para contenido de Ni en plantas de cinco especies de leguminosas	54

Figura 16. Incremento en altura en cinco especies creciendo en suelos de tres niveles de contaminación

56

Figura 17. Longitud de raíces en cinco especies creciendo en suelos de tres niveles de contaminación

57

Figura 18. Peso fresco en cinco especies creciendo en suelos de tres niveles de contaminación

58

Figura 19. Peso seco en cinco especies creciendo en suelos de tres niveles de contaminación

60

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las leguminosas forman la tercera familia más grande de plantas con flores con más de 19,000 especies distribuidas en 750 géneros (Borges, 2002); una de las principales características de los miembros de esta familia es su capacidad para establecer una asociación simbiótica con bacterias del suelo fijadoras de nitrógeno. Las plantas leguminosas son muy importantes en los diferentes ecosistemas ya que ellas constituyen la principal fuente de nitrógeno para los suelos. Se distinguen por su simbiosis con bacterias del género *Rhizobium* y con otros organismos intercambiantes de nitrógeno y del aporte de este nutrimento al sistema (Graham y Vance, 2003). Por su amplia adaptabilidad en lo que al clima y suelo se refiere, es posible encontrarlas en casi todas las formaciones ecológicas existentes.

En las actividades del aprovechamiento del petróleo, la extracción y los derrames contaminan las aéreas circundantes de los pozos. Esto ocasiona severos daños a la vegetación, suelo y medio ambiente que altera los cambios físicos, químicos y biológicos del suelo, en adición a estos cambios ocurren peligrosas contaminaciones por metales pesados. La mayor parte de los componentes del petróleo son relativamente insolubles y pueden permanecer en el suelo por largos periodos (Okoh y Trejo Hernández, 2006). Uno de los métodos para corregir los suelos contaminados es mediante la técnica de fitorremediación usando plantas que acumulan en su tejido vegetal grandes cantidades de elementos pesados (Prieto *et al.*, 2009).

Las plantas más utilizadas para la biorremediación son las leguminosas por el papel que juegan en los procesos de sucesión natural y el incremento de la fertilidad y la calidad del suelo (Alderete-Chávez *et al.*, 2008; Prieto *et al.*, 2009). Por ello se ha propuesto la técnica de fitoremediación, que consiste en el uso de plantas capaces de extraer y concentrar los contaminantes en sus tejidos (Kidd *et al.*, 2007).

En este trabajo se exploró el potencial fitorremediador de cinco especies de leguminosas, tres de ellas de la región centro del país: *Lupinus montanus*, *Lupinus leptophyllus*, *Lupinus versicolor* y dos del sureste de México: *Clitoria ternatea* y *Leucaena leucocephala*. Para lograr el objetivo, se evaluó el efecto de diferentes estrategias de escarificación de las semillas para su germinación, la concentración y contenido de Cd, Ni, Cu, Zn y Pb en las

plantas y desarrollo en términos de altura, diámetro del tallo, peso fresco de biomasa y peso seco de las plantas.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. Historia de la industria petrolera en México

En México, la producción de petróleo es un monopolio estatal. La constitución Mexicana otorga a la compañía petrolera estatal, PEMEX, los derechos exclusivos sobre la producción de petróleo y extracción, y es para el gobierno mexicano una fuente importante de ingresos. De 1979 a 2007, México produjo la mayor parte del petróleo del campo Cantarell, que solía ser el segundo campo petrolero más grande del mundo en producción. Debido a la caída de la producción, en 1997 Pemex inició un proyecto masivo de inyección de nitrógeno para mantener el flujo de petróleo, que en la actualidad consume la mitad del nitrógeno que se produce en el mundo. En el ámbito internacional, la empresa Pemex Gas y Petroquímica Básica es de las principales procesadoras de gas natural, que durante el 2004 ha procesado cerca de 4 mil millones de pies cúbicos diarios (mmpcd), y la segunda empresa en la Productora de Líquidos, con una producción de 451 mil barriles diarios (mbd) en sus 11 Centros de Procesamiento. Cuenta con una extensa red de gasoductos, superior a 12 mil kilómetros, a través de la cual se transportan más de 3,600 mmpcd de gas natural, lo que la ubica en el décimo lugar entre las principales empresas transportistas de este energético en Norteamérica. En México, Pemex Gas se encuentra entre las 10 más grandes por su nivel de ingresos, superiores a 16,300 millones de dólares en 2004, con activos cercanos a 9,000 millones de dólares (IMP, 2010).

A Tabasco se le ha llamado "El Estado de la Energía", debido a la importancia que ha adquirido con la explotación del petróleo y sus derivados, así como a la generación de energía eléctrica. En la actualidad existen alrededor de diez complejos petroleros, en el estado. Villahermosa es el centro regional de operaciones de Pemex, albergando a dos de las áreas más importantes: Pemex, Exploración y Producción, y Pemex, Petroquímica Básica. Por lo cual el 50% del petróleo crudo que México provee al mundo, viene del puerto de Dos Bocas, Paraíso, Tabasco. En Tabasco este recurso ha sido eje de su economía estableciendo programas de intercambio productivo tanto internos como externos, que permiten ampliar la actividad comercial y económica de la entidad hacia diferentes mercados (IMP, 2010).

Desde siempre ha habido petróleo en Tabasco, a este recurso natural se le debe en gran parte el crecimiento económico del estado; existen 30 campos, con 870 pozos en funcionamiento para la explotación de petróleo, gas natural y minerales no metálicos.

El fracaso de los grandes planes agropecuarios se puso mayormente de manifiesto con la petrolización de Tabasco, la cual ha disminuido aun más las tierras agrícolas. La existencia de petróleo fue otro mito que se fomentó ruidosamente desde que, por accidente, el padre Gil y Sáenz descubrió en Macuspana la existencia del preciado líquido a flor de tierra; pero, aunque no se explotó rápidamente, como se deduce de los documentos de la Dirección General de Gobierno, estuvo siempre en el interés de los tabasqueños y de las compañías extranjeras que, como El Águila y la Water Pierce, y parte de la Sinclair Pierce, iniciaron sus actividades en la zona (PEMEX, 2010).

La petrolización del estado cobró auge y varios campos se fueron descubriendo, como los de Fortuna Nacional en 1949, Tortuguero en 1950, José Colomo en 1951; el primero y el último darían origen en 1974 a la creación de Ciudad Pemex, que generaría más del 30% de la producción nacional de gas. Surgieron también La Venta, Usumacinta, Almendro, Santuario, San Román, Tintal, Samaria y Tucán, entre otros. Los pozos en operación fueron en aumento y dieron lugar a un fenómeno que no se esperaba luego del momento de mayor riqueza durante el auge de la producción platanera en su carácter agroexportador: el petróleo se convirtió en la causa de un auge aún mayor (PEMEX, 2010).

Sin embargo, los ingresos derivados del petróleo ya no fueron exclusivamente manejados por la entidad, sino por una de las burocracias más rígidas de la administración pública federal, la de Petróleos Mexicanos. En el año de 1974, debido a las nuevas reservas, México pasó de ser importador de crudo en el primer semestre a exportador en el segundo. En cuanto a recursos naturales no renovables para la industria del petróleo existen en el municipio del centro 125 pozos petroleros en explotación en 6 campos: 16 en Bellota, 35 en Cunduacán, 19 en Iride, 10 en Oxiacaque, 45 en Samaria, en los cuales se extrae una producción diaria de 170,529 barriles de petróleo y 237.0 millones de pies cúbicos de gas natural.

La explotación del petróleo en México ha dejado impactos ambientales y sociales muy graves. Esta desarrollada principalmente en la plataforma marina y zonas de humedales del

sureste del país. La exploración y producción petrolera ha significado el deterioro dramático de ecosistemas de gran diversidad biológica y enorme productividad, así como de la calidad de vida de una numerosa población que vivía de la abundancia de recursos naturales que les brindaba su entorno.

Las obras de infraestructura y las tecnologías inadecuadas para las zonas de humedales, la explotación acelerada e intensiva, el descuido permanente del ambiente, la falta de mantenimiento y seguridad en las instalaciones y la realización de actividades en ecosistemas extremadamente frágiles, son prácticas comunes de Petróleos Mexicanos (Pemex) y la causa principal del enorme deterioro ambiental provocado por esta empresa en el sureste de México. Las prácticas destructivas de Pemex han sido posibles gracias a la impunidad con que actúa la paraestatal, a su falta de responsabilidad frente a la sociedad y a la inexistencia de un Estado de Derecho Ambiental en el país. Ante la presión social, Pemex ha respondido con una política basada en la indemnización, eludiendo cualquier compromiso de restauración ecológica o de transformación de sus prácticas contaminantes. En el mejor de los casos se indemniza, mientras los daños al ambiente aumentan. (PEMEX, 2010)

2.2. Características botánicas y ecología de las especies de leguminosas

2.2.1. *Clitoria ternatea* L.

El género *Clitoria*, pertenece a la familia Fabaceae. Es una leguminosa de áreas tropicales y subtropicales, originaria de Asia (Hurtado-Luna *et al.*, 2008), que se localiza en ambos hemisferios, aunque otros atribuyen su origen a Centro, Sudamérica y el Caribe, desde los 20° N hasta los 24° S (Villanueva *et al.*, 2004).

Planta bianual o perenne de vida corta, semiarbusciva y trepadora alcanza una altura de 60 a 70 cm sus tallos son finos de 0.5 a 3 m de largo, hojas pinadas de cinco a siete folíolos oblongo-lanceoladas de 1.5 a 7.0 cm de largo y de 0.3 a 4.0 cm de ancho, ligeramente pubescentes. Flores simples o pareadas, con pedicelos gemelos ubicados a 180° y con forma de embudo invertido, blancas o azuladas de 2.5 a 5.0 cm de longitud. Las vainas son alargadas y planas de 6 a 12 cm de largo y de 0.7 a 1.2 cm de ancho con mas de 10

semillas (negras, verde olivo, café o moteadas) de 4.7 a 7.0 mm de largo y 3 mm de ancho, sus raíces son fuertes y profundas (Barro y Ribeiro, 1983).

Las semillas de *C. ternatea* de reciente cosecha presentan problemas para germinar, pero almacenadas por seis meses, mejoran la tasa de germinación en 20%, la cual se incrementa hasta 80% mediante escarificación con arena o tratamientos con agua caliente, ácido sulfúrico e hidróxido de potasio. Esta especie contribuye al mejoramiento y protección de los suelos, cultivo de cobertura en plantaciones y conservación de suelos en laderas y zonas con pendiente (Villanueva *et al.*, 2004).

2.2.2. *Lupinus leptophyllus* Schlecht & Cham.

Se le encuentra en cultivos entre los 2981-3029 msnm, y en pendientes de 2-30%, exactamente en la frontera de las parcelas cultivadas y donde se localiza *L. uncinatus*. Llega hasta los 3170 msnm en bosques de *Abies religiosa*. Es una planta anual, de vida corta, tallos con médula sólida, de más de 1 m de alto, erectos o ramificados, estipulas moradas, de 5 a 12 mm de largo, pecíolos de las hojas de 4 a 8 cm de largo, los folíolos de 6 a 8 (se encontraron hasta 10 en este estudio) de 4.5-8 cm de largo y de 9-15 mm de ancho, ápice agudo, flores esparcidas, ápice plumoso, que desaparece con la edad, flores moradas, con alas blanquecinas, los frutos son vainas pilosas de 4-5 cm de largo, de 8-9 mm de ancho, conteniendo de 26 a 98 vainas por planta, y de 2 a 9 semillas maduras por vaina, florece a partir de los últimos días de enero, las primeras semillas maduras (oscuras a café oscuro) aparecen en Marzo (Alderete-Chávez *et al.*, 2008).

2.2.3. *Lupinus montanus* HBK.

Esta especie se le puede encontrar en orillas de caminos, pero abunda más entre los 3450-3556 msnm en bosques de *Pinus hartwegii* con pendientes de 15-73% y en poblaciones densas. La literatura reporta que su hábitat es entre los 2500-4100 msnm, coincidiendo con el área de estudio en donde se puede encontrar dentro de este intervalo con mayor difusión, formando colonias compactas de hasta 10 hectáreas o más, sobre todo en el bosque de *P. hartwegii*.

Las plantas de esta especie son de perennes a anuales o bianuales, de más de 1.5 m de alto, tallos huecos, y ancho de 4 a 15 mm, estipulas de 3 a 10 cm de largo, folíolos de 10 a 14 (en el estudio hasta 17 folíolos), ápice agudo, flores verticiladas, moradas, flores más grandes que otras especies, ápice plumoso, pedúnculo floral grueso, en ocasiones bifurcado. Sus frutos son vainas de 4 a 5 cm de largo y de 9 a 10 mm de ancho, produce de 45-73 vainas, de 3-9 semillas maduras moteadas a negras por vaina, florece a finales de Mayo (Alderete-Chavez *et al.*, 2008).

2.2.4. *Lupinus versicolor* Sweet.

Se le encuentra a 3016-3257 msnm con pendientes de 7 a 21% en orillas de caminos y en bosques perturbados de *Abies*; mide menos de 1 m de alto, con pecíolos de 3 a 3.5 cm de largo y de 6-7 folíolos oblanceolados a obtusos ligeramente vellosos, flores verticiladas, de 32 a 64 vainas por rama y de 4 a 9 semillas por vaina de color café oscuro; florece en los meses de Abril a Agosto (Alderete-Chávez *et al.*, 2008).

2.2.5. *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.

L. leucocephala (Lam.) de Wit. pertenece a la familia Mimosaceae; es una leguminosa originaria de México, y se ha propagado por todos los trópicos del nuevo y viejo mundo, adaptándose en la mayor parte de los países tropicales. Es un árbol grande, que puede alcanzar hasta los 15 m de altura, aunque por lo general, no es más que un arbusto de 3 m o menos (García *et al.*, 2008). Su capacidad de adaptación le permite desarrollarse desde el nivel del mar (Guevara y Guenni, 2004), en zonas donde ocurren precipitaciones de 760 mm; prefiere los suelos neutros con adecuado contenido de Ca y pH mayor a 5.5; aunque también se adapta a suelos arcillosos, pesados y salinos; posee alto valor nutritivo, conformado por 25.9% de proteína cruda, 22.4% de proteína verdadera, 75.9% de digestibilidad de la materia orgánica, 2.4% de calcio y 0.23% de fósforo, entre otros (Betancourt *et al.*, 2002).

Sin embargo, presenta algunas desventajas como establecimiento lento debido a la latencia de las semillas, causada por mayor cantidad de inhibidores del crecimiento respecto de las sustancias promotoras o por la presencia de una cutícula impermeable al agua y al oxígeno, lo que causa variación en la germinación de estas especies (Contreras y Vivas, 1995).

De acuerdo con Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos (2006) *L. leucocephala* produce gran cantidad de semillas en casi todos los climas donde se cultiva, con el inconveniente de que posee un porcentaje de germinación bajo debido al endurecimiento de la capa superficial de la testa, tegmen o tegumento, que no permite la entrada de oxígeno, luz y agua para el crecimiento del embrión.

2.3. Escarificación de semillas

En algunas especies de leguminosas la germinación es baja debido al endurecimiento de la capa superficial (testa o tegmen) de la semilla lo que las hace impermeable y no permite la entrada de agua, oxígeno y luz para que el embrión se desarrolle y germine. Los métodos más comunes de escarificación que se aplican a las leguminosas son los métodos físicos, químicos y mecánicos (Baskin y Baskin, 1998).

Las leguminosas, en general ofrecen singulares ventajas. Esto es debido, entre otras cosas, a su capacidad de fijación de nitrógeno, mejorando la fertilidad de los suelos, por su aporte de materia seca de buena calidad y disponibilidad de biomasa en la época crítica, dada la profundidad de sus raíces. Sin embargo estas plantas, en su mayoría, presentan ciertos problemas en el establecimiento, como consecuencia de su bajo porcentaje de germinación, permitiendo a las malezas desarrollarse más rápidamente, por lo que deben ser escarificadas en la mayoría de los casos (Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos, 2006).

El proceso de escarificación consiste en el ablandamiento, a través de métodos diversos, de las capas más externas (episperma) de las semillas sexuales, empleando diferentes métodos de escarificación, tales como la escarificación mecánica, para lo que se emplean equipos especiales para aplicar abrasión o en su defecto, papel de lija. Otro de los métodos es la imbibición en agua potable. También existe el método de escarificación con ácido, utilizando en la mayoría de los casos ácido sulfúrico concentrado. Por último el remojo de la semilla en agua, combinado con altas y bajas temperaturas (Alexander y Sánchez, 2002).

Razz y Clavero (2003) realizaron un experimento y evaluaron el efecto de diferentes métodos de escarificación y tiempo de almacenamiento sobre el porcentaje de germinación de *Pithecellobium dulce*. Los factores evaluados fueron 5 métodos de escarificación

(control, lija N° 80 durante 5 min, y agua caliente a 60 °C embebidas durante 5, 10 y 15 min) y 6 tiempos de almacenamiento (0, 1, 2, 3, 4 y 5 meses). Observaron diferencias entre la escarificación, los remojos y el control, y al final de la evaluación los menores porcentajes se registraron con el método mecánico, registrándose una reducción significativa de la germinación a partir del tercer mes de almacenamiento. Para obtener altos porcentajes de germinación en semillas de *P. dulce* recomiendan no almacenar las semillas por más de dos meses y escarificarlas con agua caliente durante 5 min.

Pietrosemoli y Mendiri (1997) evaluaron diferentes métodos de escarificación: Ácido sulfúrico al 98 % sumergiendo las semillas durante 5 y 8 minutos, imbibición en agua durante 24 y 48 horas y semillas no tratadas. Colocaron 20 semillas por cápsula de Petri, las cuales habían sido desinfectadas con una solución clorada al 1 % y esterilizadas en autoclave y utilizaron como substrato papel absorbente. Concluyeron que las semillas de *Clitoria ternatea* L. recién cosechadas requieren de tratamiento previo a la siembra. El tratamiento de semillas de *Clitoria ternatea* L. recién cosechadas, con ácido sulfúrico concentrado al 98% incremento su porcentaje de germinación. La imbibición de las semillas recién cosechadas en agua durante 24 y 48 horas no mejoro su germinación.

Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos (2006) evaluaron el efecto de tratamientos pregerminativos y características morfológicas de *Leucaena leucocephala* y *Prosopis juliflora* (cují). En leucaena, las semillas las trataron por 10 min en agua caliente (80°C), dos horas de remojo en agua (25°C), escarificación con lija # 80 por 20 y 40 min, y un testigo. En cují, sembraron semillas con o sin el artejo con 21 días de almacenamiento o frescas. Registraron el porcentaje de germinación (PG) y la tasa de germinación (TG) y a los 32 días el número de hojas (NH), altura de la plántula (AP), longitud de la raíz (LR), diámetro de la raíz (DR) y del tallo (DT). La germinación se inició al cuarto día y fue constante a partir de los 20 días en leucaena y a los 16 en cují. En leucaena, el tratamiento con agua caliente (80°C) por 10 min fue el mejor, 91.5% de germinación. La TG varió de 12.82 a 14.88 días. Se encontró correlación positiva ($P < 0.01$) en AP, LR, DR, DT y NH, a excepción de DR con AP y LR. En cují, la siembra de semillas frescas con el artejo mostró el máximo PG (29%). La TG fluctuó entre 7.43 y 10.01 días. Se encontró relación positiva en la AP con LR y NH, de la LR con el NH y del DR con DT. Los tratamientos pregerminativos incrementaron la germinación en semillas de leucaena y cují.

Con la finalidad de mejorar su baja capacidad germinativa, consecuencia de un pericarpio de consistencia dura que cubre a la semilla, Díaz *et al.* (1994), realizaron tres experimentos en los que evaluaron los siguientes tratamientos: golpeado suave con martillo (escarificación mecánica), remojo en agua, remojo en solución de KNO_3 (escarificación química), inclusión en mezcla de estiércol con tierra y pase por licuadora (escarificación mecánica). Los resultados obtenidos confirman que el problema de la baja capacidad de germinación se debe al factor físico señalado, la cubierta dura, y demuestran que la escarificación mecánica es el medio más efectivo para mejorar la germinación. Dentro de esta, la utilización de la licuadora resultó la forma más efectiva y práctica.

2.4. El suelo.

El termino suelo, tiene diferentes significados, el más tradicional, señala que es el medio natural para el desarrollo de plantas terrestres, como filtro de agua, deposito de contaminantes, además de funcionar como regulador natural que controla el transporte de elementos y sustancias a la atmósfera, hidrosfera y a la biota, cubriendo a toda la superficie terrestre, excepto las afloraciones rocosas y las de hielo perpetuo, aguas profundas o glaciares con afloramientos del hielo. De tal manera que el suelo tiene un grosor determinado por la profundidad de las raíces de las plantas. Los metales se encuentran en forma natural en el suelo, antes de la existencia humana, son liberados del material parental, de la roca madre o por causas naturales que pueden incrementar las concentraciones de metales en el suelo (Estévez *et al.*, 2000).

2.5. Metales pesados.

Los metales pesados son definidos como los metales de la tabla periódica con número atómico >20 , excluyendo metales alcalis y tierras alcalis o metales teniendo densidades especificas $>5\text{g/cm}^2$ (Brunetti *et al.*, 2009). Las concentraciones de estos metales pueden incrementarse debido a variaciones geoquímicas locales o actividades antropogénicas de modo que se vuelven tóxicos para los organismos vivos, incluido el ser humanos (Ross, 1994). La quema de combustibles fósiles, incrementa el contenido de As, Cd, Cu, Ni, Pb, Se, V y Zn en suelos (Cataldo *et al.*, 1987).

La movilidad y la biodisponibilidad de los metales están determinadas por factores ambientales, y la fijación de metales en los sedimentos ocurre por adsorción y reacciones con la materia orgánica, debido al tipo de suelos, la textura, capacidad de intercambio catiónico, pH y el potencial oxido-reductor. Suelos con alto contenido de humus tienen buena capacidad de intercambio catiónico y de retención, no obstante las arcillas exhiben alta retención por absorción (Brunetti *et al.*, 2009).

Los metales pesados pueden participar en una serie de procesos, incorporándose al ciclo del agua, principalmente en la fase relacionada con el suelo y el agua subterránea, puede acumularse en el suelo como resultado de reacciones químicas vía procesos de adsorción, solubilización, precipitación y cambios en su estado de oxidación, o bien pueden estar presentes en tejidos vegetales, debido a su asimilación por las plantas (Navarro *et al.*, 2007). Las consecuencias ecológicas de los suelos contaminados por metales pesados, aparentemente pasan desapercibidos, pero son potencialmente peligrosos para la vida terrestre (Bernal *et al.*, 2007).

El derrame de hidrocarburo en el suelo provoca alteraciones físicas; la estructura del suelo se altera debido a la ruptura de los agregados, tomando un aspecto laminado de color oscuro; se aumenta la retención de agua superficial que se refleja en la capacidad de campo (Adams *et al.*, 2008), constituyendo una fuente principal de contaminación por metales pesados lo cual depende de la velocidad de infiltración de la composición granulométrica de los estratos del suelo. Debido a que la mayor parte de los componentes del petróleo son relativamente insolubles, una mayor parte del contaminante es atrapada entre las partículas del suelo o adsorbidas por el suelo (Okoh y Trejo-Hernández, 2006).

Otra fuente de contaminación por metales pesados es la acumulación a partir de residuos industriales, urbanos y mineros (metalurgia, fabricación de pinturas, barnices, disolventes, baterías, textiles, curtidos, etc). La actividad minera es una fuente importante de derrama económica para el país pero genera grandes impactos ambientales con la contaminación por metales pesados, lo mismo que el aporte directo procedente de actividades agrícolas (adición de fertilizantes, pesticidas, lodos de depuradoras, composta, etc.).

2.6. Características de los metales pesados (Cadmio, Cobre, Níquel, Plomo y Zinc)

2.6.1. Cadmio

Este elemento no tiene una función biológica esencial y es altamente tóxico para plantas y animales, sin embargo, las cantidades de cadmio en el ambiente no causan toxicidad grave. El cadmio se absorbe más fácilmente sobre la superficie del suelo que otros metales. Se ha encontrado que este ion predomina a pH arriba de 6.5 como sulfato de cadmio o cloruro de cadmio. El equilibrio dinámico entre cadmio y suelo depende del pH, la naturaleza química del metal, la estabilidad de complejos, fuerza de enlace de los grupos funcionales y la competencia con otros iones metálicos (Estévez *et al.*, 2000).

2.6.2. Cobre

El cobre es considerado uno de los elementos mas importantes y esenciales para las plantas. Esta asociado con la materia orgánica del suelo. La disponibilidad de este elemento en las plantas se refiere a la facilidad con la que es absorbido por las plantas (Torres *et al.*, 2007)

2.6.3. Níquel

El níquel es un elemento natural. El níquel puro es un metal duro, blanco–plateado, que se usa para fabricar acero inoxidable y otras aleaciones de metales. Puede combinarse con otros metales, tales como el hierro, cobre, cromo y zinc para formar aleaciones. El níquel se encuentra en todos los suelos. Este elemento es liberado a la atmosfera por industrias que manufacturan o usan níquel y sus aleaciones o compuestos (ATSDR, 2003)

2.6.4. Plomo

Es un metal potencialmente dañino que tiende a contaminar el ambiente ya que se acumula en los suelos a causa de su baja solubilidad y relativa inmunidad a la degradación microbiológica por lo que permanece accesible a la cadena alimenticia y no hay evidencia de que juegue un rol esencial en el metabolismo humano (Estévez *et al.*, 2000).

2.6.5. Zinc

El Zinc es un elemento traza esencial para las plantas superiores y los animales (Montenegro y Fredes, 2008). Está presente en muchos alimentos y en suelos con bajo contenido de materia orgánica.

2.7. Fuentes de metales pesados

La mayoría de los metales son ampliamente utilizados en las diversas ramas de la industria, incluidas el refinado del petróleo. El petróleo es considerado como un contaminante ya que aunque es un producto de origen natural, empieza a causar problemas debido a los niveles de acumulación en los ecosistemas naturales. El gas natural y el petróleo son dos fuentes naturales de hidrocarburo y metales pesados. Se encuentran como depósitos generados por la descomposición gradual, durante millones de años, de plantas y animales, así como otros materiales biológicos (Graterol, 2006).

La mayoría de los metales son ampliamente utilizados en las diversas ramas de la industria, incluidas el refinado del petróleo. Se encuentran como depósitos generados por la descomposición gradual, durante millones de años, de plantas y animales, así como otros materiales biológicos (Graterol, 2006).

Las principales fuentes de contaminación por hidrocarburos fósiles en los suelos, son las deficiencias en el mantenimiento de fosas de pozos petroleros, las descargas de instalaciones de procesamiento y petroquímica, la ruptura de oleoductos y en menor medida desechos municipales y los depósitos vía atmosférica (García-Cuellar *et al.*, 2004).

Otras fuentes de contaminación por metales pesados son: la petroquímica, la siderurgia, la papelera, productos químicos, plásticos, fertilizantes y cementos, entre otros, estos metales pueden ser: Fe, Zn, Cr, Co, Pb, Hg, Cd, V, Ni, Mo, Mn (Montenegro y Fredes, 2008). Lo anterior refleja la importancia de los metales pesados provenientes de los derivados del petróleo en los suelos como contaminantes, entre los que destacan: Ni, V, Pb, Zn, Cd y Cr (Cabrera *et al.*, 2004).

Gutiérrez y Zavala (2001) estudiaron la relación entre los rasgos hidromórficos, la mineralogía y la actividad biológica de suelos tropicales, para conocer porqué presentan diferente comportamiento a la acumulación de hidrocarburos. Se analizaron las propiedades de ocho perfiles de suelos en el campo petrolero Samaria, Tabasco. Los suelos se clasificaron como Gleysoles y Fluvisoles. En los Gleysoles, la naturaleza mineralógica tiene superficies activas que permiten la acumulación de los hidrocarburos en la masa basal, en contraste con la actividad biológica que arrastra los hidrocarburos a través de los

canales; esto origina su fragmentación y las condiciones oxidantes para la precipitación del hierro. En los Fluvisoles, la acumulación es menor, debido a superficies menos activas (cuarzos y plagioclasas) y buen drenaje, lo que permite su oxidación y evaporación rápida. Hay pocos rasgos hidromórficos por las condiciones oxidantes y la actividad biológica es menor.

Rivera-Cruz y Trujillo-Narcia (2004) y Rivera-Cruz *et al.* (2005) identificaron que las leguminosas son más sensibles que otras plantas a la exposición del petróleo y presentan los índices más altos de fitotoxicidad, encontrando que *Crotalaria* sp, es la especie más sensible a la exposición a concentraciones altas de petróleo por lo que podría ser una especie con potencial para ser utilizada como fitoindicadora de suelos contaminados por hidrocarburos.

En ese sentido Trujillo *et al.* (1995) en un estudio realizado en Huimanguillo, Tab., determinaron que los tres principales metales pesados encontrados en los suelos, fueron el Ni, V y Pb. El Ni presentó concentraciones de 150 mg kg^{-1} , el V de $115\text{-}160 \text{ mg kg}^{-1}$ y el Pb 50 mg kg^{-1} . Sin embargo Lagunes *et al.* (1995) en suelos de la Chontalpa Tab., en áreas circundantes a instalaciones petroleras, reportaron concentraciones de 126 mg kg^{-1} de Pb que según Jones *et al.* (2003) rebasan los límites permisibles, ya que estos niveles de concentración, pueden representar un problema potencial en un futuro no muy lejano.

2.8. Efectos tóxicos de los metales pesados en plantas.

Algunos metales juegan un papel dual, al ser esenciales para el desarrollo de las plantas y a su vez pueden ser dañinos a altas concentraciones. Los elementos limitantes en el desarrollo de las plantas pueden conducirlos a la muerte y producirse por incrementos relativamente pequeños en la concentración del elemento esencial, como puede ser el caso del Zn y el Cu. Para el caso de aquellos elementos no esenciales, las bajas concentraciones de estos no ocasionan efecto alguno sobre las plantas; los daños pueden ser observados cuando la concentración llega a valores considerados tóxicos (Mancera-Rodríguez y Álvarez-León, 2006).

La habilidad que tienen las plantas de impedir la toma de metales, es limitada y depende del proceso de acumulación de los elementos en el suelo. La reducción en la capacidad de

exclusión por parte de la planta esta en función del incremento de la cantidad de estos elementos. Entre los elementos más fáciles de asimilar por las plantas están el Cd, Ni y Zn, por lo que en periodos cortos se pueden esperar efectos perjudiciales como acumulación en el tejido de las plantas y alteración de la función de los elementos esenciales que son similares desde el punto de vista químico (Navarro *et al.*, 2007).

Para efectuar evaluaciones confiables de concentraciones de metales pesados, lo deseable es una escala de toxicidad, sin embargo su obtención implica generalizaciones que no son confiables, ya que existen organismos más sensibles que otros, por lo que la escala de peligro para unos, puede variar para otros, además puede ignorarse la parte del organismos donde ocurre el efecto negativo (Morin, 2007).

El requerimiento de Ni en las plantas es de concentraciones muy pequeñas $1.7 \mu \text{ mol Ni g}^{-1}$ de peso seco o menos (Brown *et al.*, 1988). La concentración de Ni en las plantas que crecen en suelos no contaminados es de $0.1 - 5.0 \text{ mg kg}^{-1}$, y en las hojas de plantas hiperacumuladoras de Ni se pueden encontrar $>1000 \text{ mg kg}^{-1}$ ($17 \mu \text{ mol g}^{-1}$) con base al peso seco Kramer *et al.* (1997) mencionan que los síntomas de toxicidad por Ni en diferentes tipos de plantas pueden ser observados con concentraciones entre $0.19-0.85 \mu \text{ mol Ni g}$ de peso seco.

Las concentraciones comúnmente reportadas de plomo en las plantas son menores de 1 mg kg^{-1} en frutos y semillas de $1-3 \text{ mg kg}^{-1}$ en hojas. En cantidades muy altas son cuantificadas en las raíces (Wallace y Wallace 1994). Haque *et al.* (2008) indican que la concentración de Plomo en el tejido de la hoja para varias especies esta en un rango permisible con $5-10 \text{ mg Pb kg}^{-1}$ de peso seco y es excesivo o toxico con $30-300 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb de peso seco.

Los metales pesados como Cu y Zn son esenciales y son imprescindibles para el crecimiento normal de la planta, aunque las concentraciones elevadas de metales pueden resultar en la inhibición del crecimiento y síntomas de toxicidad. Por tanto la absorción y la toxicidad de los metales varía según las especies de las plantas, las características del suelo y las proporciones de los metales pesados presentes (Bernal *et al.*, 2007). Las plantas poseen un intervalo de mecanismos celulares potenciales que pueden estar involucrados en la desintoxicación de metales pesados (Hall, 2002). La presencia de metales pesados en el

ambiente ejerce un efecto inhibitorio sobre los organismos vivos, pero también varía la resistencia al efecto tóxico del metal, estas variaciones solo se expresan en presencia de los iones metálicos a los que son resistentes (Suárez y Reyes, 2002).

En los últimos años se ha estado desarrollando una novedosa tecnología limpia, barata y sorprendentemente eficaz para eliminar muchos de los contaminantes de los suelos afectados. Se trata de la técnica llamada fitorremediación, que consiste en el uso de plantas para limpiar suelos contaminados con metales, plaguicidas, solventes explosivos, petróleo crudo, lixiviados de vertederos y agua contaminada (White *et al.*, 2006) y determinadas especies de vegetales que absorben y concentran sustancias tóxicas.

2.9. Técnicas de remediación de suelos contaminados

Las técnicas de remediación, pueden realizarse *in situ* (en el sitio) ó *ex situ* (fuera del sitio contaminado). Se clasifican en cuatro categorías: extracción, químicas, físicas y biológicas (López-Martínez *et al.*, 2005). Entre las técnicas de extracción las más conocidas destacan:

- (a) Lavado de suelos (SOIL WASHING) consiste en una separación o una reducción del volumen del contaminante. Se aplica *in situ*.
- (b) Aplicación de vacío a suelos (SOIL VACUUM); se utiliza para eliminar compuestos orgánicos volátiles y mercurio.
- (c) Ventilación de suelos (SOIL VENTING), es una modificación de la anterior, donde se combina el efecto de extracción con la inyección de aire (López-Martínez *et al.*, 2005).

Las técnicas químicas son la oxidación y la deshalogenación. La oxidación consiste en la adición de agentes oxidantes al medio contaminado para convertirlos en compuestos inocuos comúnmente encontrados en la naturaleza (López-Martínez *et al.*, 2005). Los compuestos oxidantes que se aplican incluyen al peróxido de hidrógeno, permanganato de potasio, ozono y en menor grado, oxígeno disuelto en medios líquidos.

Las técnicas físicas incluyen la fijación y/o el encapsulamiento. En general, su objetivo es almacenar e inmovilizar los contaminantes. Ejemplos de estos procesos son la vitrificación y la solidificación con cal o cemento y la técnica de tratamiento térmico, que también se aplica para eliminar compuestos orgánicos.

Las técnicas biológicas también se les conocen como técnicas de biorremediación. La biorremediación de suelos contaminados puede realizarse con la ayuda de biofiltros, biorreactores o por compostaje. También se adicionan nutrientes para mejorar la tasa de biodegradación natural (bioestimulación) o se adicionan microorganismos más eficientes para la degradación (bioaumentación) (Corton y Viale 2006).

Una de las técnicas biológicas que más atención ha recibido es la fitorremediación que tiene como objetivo degradar, asimilar, metabolizar, compuestos orgánicos y compuestos radioactivos por medio de la acción combinada de plantas y microorganismos con capacidad fisiológica y bioquímica para absorber, retener, degradar o transformar sustancias contaminantes a formas menos tóxicas (Harvey *et al.*, 2002).

2.10. Fitorremediación.

En las últimas décadas del siglo XX surgieron tecnologías basadas en el empleo de organismos vivos para descontaminar suelos o emplazamientos contaminados y recuperar los ecosistemas afectados. Cuando estas tecnologías se basan en el uso de plantas, globalmente reciben el nombre de fitorremediación y se define como el uso de plantas verdes para eliminar los contaminantes del entorno o para reducir su peligrosidad, basándose en el uso de plantas, enmiendas del suelo y técnicas agronómicas para eliminar, retener, o disminuir la toxicidad de los contaminantes del suelo (Maruyama-Nakashita *et al.*, 2007; Chaney *et al.*, 1997).

En función de su comportamiento ante la presencia de metales en el ambiente las plantas se han clasificado en tres tipos (Olayinka, 2008):

- Excluyentes: restringen la entrada o la translocación de metales tóxicos. Esto les permite vivir en ambientes con elevadas concentraciones de metales (Llugany *et al.*, 2007)
- Indicadoras: reflejan el incremento de metal producido en el entorno.
- Acumuladoras: incrementan activamente metales en sus tejidos.

2.11. Mecanismos y fases de la fitorremediación

La fitorremediación utiliza los siguientes mecanismos:

2.11.1. *Fitoextracción* o fitoacumulación: consiste en la absorción de contaminantes por las raíces; es la capacidad de algunas plantas para acumular contaminantes en sus raíces, tallos o follaje. Este mecanismo ha sido ampliamente estudiado en plantas que acumulan metales (Piechalak *et al.*, 2008) y recientemente con materiales radioactivos (Dushenkov, 2003).

2.11.2. *Rizofiltración*: se basa en la utilización de plantas crecidas en cultivos hidropónicos, se prefieren raíces de plantas terrestres con alta tasa de crecimiento y área superficial para absorber, concentrar y precipitar contaminantes.

2.11.3. *Fitoestimulación*: o rizodegradación las plantas generan los exudados radiculares que estimulan el crecimiento de los microorganismos nativos capaces de degradar compuestos orgánicos xenobióticos.

2.11.4. *fitoestabilización*: La fitoestabilización es un mecanismo que utiliza la planta para desarrollar un sistema denso de raíces que le permite reducir la biodisponibilidad y la movilidad de los contaminantes evitando el transporte a capas subterráneas o a la atmósfera.

2.11.5. *fitovolatilización* : La fitovolatilización se produce a medida que las plantas en crecimiento absorben agua junto con los contaminantes orgánicos solubles. Algunos de los contaminantes pueden llegar hasta las hojas y evaporarse o volatilizarse a la atmósfera.

2.11.6. *fitodegradación*: consiste en la transformación de los contaminantes orgánicos en moléculas más simples. En determinadas ocasiones, los productos de la degradación le sirven a la planta para acelerar su crecimiento, en otros casos los contaminantes son biotransformados.

Una planta fitorremediadora realiza cualquiera de los mecanismos anteriores siguiendo tres fases: absorción, excreción y desintoxicación de contaminantes.

La absorción de contaminantes se realiza a través de las raíces y las hojas mediante estomas y la cutícula de la epidermis (Watt y Evans, 1999). Esta absorción ocurre en la rizodermis de las raíces jóvenes, que absorben los compuestos por ósmosis dependiendo de factores externos como la temperatura y el pH del suelo. Otros factores importantes que inciden en la penetración del contaminante son su peso molecular e hidrofobicidad que determinan que estas moléculas atraviesen las membranas celulares de la planta. Después de cruzar la membrana, los contaminantes son distribuidos a través de toda la planta (Harvey *et al.*, 2007).

Los contaminantes que se absorben por las raíces, se excretan vía hojas (fitovolatilización). Cuando las concentraciones de los contaminantes son elevadas, solo pequeñas fracciones (menos del 5 %) se excretan sin cambios en su estructura química. La desintoxicación de los compuestos orgánicos se lleva a cabo por la vía de la mineralización hasta dióxido de carbono.

Estas biotransformaciones que ocurren generalmente en la naturaleza se les denominan atenuación natural. Se ha observado que los niveles de contaminantes se reducen más rápidamente en suelos con plantas. Por ejemplo, April y Sims (1990) demostraron que la biodegradación de varios contaminantes se intensificó debido al crecimiento de pastos en los suelos contaminados con hidrocarburos. En otros estudios Anderson y Coats (1994), encontraron que la rizósfera contenía una población muy diversificada de microorganismos, dos o tres veces más abundantes que lo observado en los suelos cercanos sin hierbas.

2.12. La Fitorremediación como estrategia de recuperación de suelos contaminados.

Los conocimientos que se tienen de plantas que pueden extraer metales pesados pueden ayudar en los esfuerzos de fitorremediación, empleando algunas especies de plantas especializadas que acumulan metales pesados y han sido propuestas como una alternativa para retirarlos de suelos contaminados, como *Thlaspi caerulescens* que es una planta que acumula Zn y Cd alrededor de sus raíces, usando de modelo a *Lupinus albus* que transmite altas cantidades de citrato (Luo *et al.*, 2008).

(*Beta vulgaris* L) es otra especie que también ha sido utilizada para reducir concentraciones de metales pesados (Zn, Cd, Ni y Cu) en suelos bajo condiciones de invernadero (Haq *et al.*, 1980).

También se han explorado plantas que crecen en suelos contaminados y viven alrededor de minas de Mahad AD'Dahab como es el caso de *Pergularia tormentosa*, *Eucalyptus* sp. *Convolvulus* sp. Familia graminea, *Rhiza stricta*, *Acacia tortilis*, *Prosopis juliflora*, *Salsola* sp. *Calotropis procera* y *Ochrademus baccatus*, acumulando metales pesados como Cd, Cu, Pb y Zn, siendo *Pergularia tormentosa* la que mas acumula altos niveles de metales pesados en estos suelos (AL-Farraj y Al-Wabel, 2007). Esto puede deberse a que las plantas absorben cationes y aniones tóxicos por semejanzas químicas con los nutrientes. Los metales tóxicos absorbidos son fijados en los tejidos en compuestos orgánicos que se vuelven asimilables para los animales. En este sentido las plantas representan una importante vía de transferencia de elementos potencialmente tóxicos del suelo al hombre (Cataldo *et al.*, 1987). Los contaminantes orgánicos pueden ser disipados en el ambiente inmediato de la raíz (Parrish *et al.*, 2005) o ser tomados por las raíces de las plantas y acumularse en ellas para ser metabolizados o volatilizados (White *et al.*, 2006).

Con *Populus deltoides* se ha demostrado que hay volatilización del éter metil terbutílico expuesto en las raíces y encontrado en las hojas (Aitchison *et al.*, 2000), demostraron que *Raphanus* sp. desarrolla su sistema radicular en un año y que, durante el mismo tiempo, absorbe compuestos fenólicos que remueve hasta en un 90 % de la concentración inicial.

Venkata *et al.* (2006) ensayaron con éxito el crecimiento de diferentes especies de plantas en presencia de pentaclorofenol e hidrocarburos aromáticos policíclicos. Recientemente, Corgie *et al.* (2006) y Joner y Leyval (2003) probaron la fitoestimulación mediante la adición de un flavonoide hidroxilado y una flavona sintética no hidroxilada, ambos metabolitos secundarios de álamos (poplares) encontraron que concentraciones superiores a 10 $\mu\text{mol/L}$ impedían la mineralización de benceno marcado en ensayos con lodos provenientes de las raíces. Finalmente, Su *et al.* (2008) investigaron la capacidad de degradación y la composición de las comunidades microbianas durante la fitoestimulación en la raíz de alfalfa expuesta a hidrocarburos del petróleo. Encontraron que la máxima tasa de degradación fue de 38 mg de hidrocarburos/kg al mes. Este resultado es el doble de lo

que se encontró en el testigo. Los mismos autores también observaron que existe alternancia en la composición de las comunidades microbianas.

La secreción de ácidos orgánicos de las raíces funciona por mecanismos múltiples en respuesta a diferente estrés ambiental (por ejemplo, estrés al Al, P, Fe, y anoxia). Además, la sorpción de ácidos orgánicos en la fase mineral y la mineralización microbiana del suelo son críticas determinando la eficacia de ácidos orgánicos en la mayoría de los procesos de la rizosfera (Jones, 1998). También depende del tipo de suelo como lo reporta Eshan *et al.* (2007); Eshan *et al.* (2009) que la absorción rápida de los metales en suelos ligeramente ácidos de arcilla en el primer día de incubación se atribuye al contenido de arcilla tan elevado del suelo que utilizo para la incubación.

Las raíces de diferentes plantas, por ejemplo las arbóreas como la mora roja (*Morus rubra*), liberan compuestos que se incrementan continuamente durante el crecimiento. Estos compuestos fenólicos de la rizosfera pueden crear un ambiente apropiado para la biodegradación de contaminantes, tales como los hidrocarburos derivados del petróleo y estos al igual que los fenólicos favorecen el crecimiento de algunos microorganismos, mientras que inhiben el crecimiento de otros. Aprill y Sims (1990) observaron que las raíces de pastos como *Andropogon gerardii*, *Sorghastrum nutans*, *Panicum virgatum*, *Elymus canadensis*, *Schizachyrium scoparius*, *Bouteloua curtipendula*, *Agropyron smithii* y *Bouteloua gracilis* pueden ser mas efectivas para estimular la microflora de la rizosfera debido a su raíz fibrosa, la cual puede explorar hasta tres metros de profundidad en suelos contaminados por hidrocarburos.

Se han propuesto plantas como *Thaspi caerulescens* como una alternativa para fitorremediar suelos ya que en una sola cosecha baja hasta la mitad los niveles de Cd en el suelo (Robinson *et al.*, 1998). El Cadmio (Cd) es considerado como una toxina potencial que es dispersada principalmente en ambientes naturales y agrícolas a través de orígenes antropogenos. Las aguas residuales municipales sin tratar, a menudo contienen Cadmio, que es usado para regar tierras agrícolas en muchos países en vías de desarrollo. El índice en la disponibilidad de Cd se reduce al aumentar la profundidad del suelo y se encuentra en el tejido de las hojas de algunas verduras que ingerimos diariamente como (*Momordica charantia*, *Brassica oleraceae*, *Cucurbita pepo*, *Allium cepa* y *Spinacia oleracea*), y

desarrolla niveles altos de Cd que puede causar varias enfermedades en el cuerpo humano (Qadir *et al.*, 2000).

Sin embargo se ha encontrado que no hay ningún efecto perjudicial en el crecimiento de las plantas de mora en suelos contaminados con Cd en dosis bajas, aunque si disminuye su crecimiento y la cosecha, decreciendo la biomasa de los gusanos de seda que se alimentan de estas hojas (Wang *et al.*, 2004).

Peñalosa *et al.* (2004) al estudiar la respuesta de aluminio (Al) en *Lupinus albus* y *L. Angustifolius*, utilizando *L. luteus* y *Hordeum vulgare* como control tolerante y susceptible, respectivamente en solución nutritiva y en suelos con alto contenido de aluminio concluyendo que *L. albus* y *L. angustifolius* pueden tolerar al menos 42% de saturación de Al en suelos con adecuada disponibilidad de P. La respuesta a este estrés dependió de la habilidad de las especies para acceder al P retenido en el suelo, en aquellos deficientes en P. La exudación de citratos a través de raíces fue al menos una de las estrategias utilizadas por ambas especies de lupino para tolerar concentraciones de Al fitotóxico en el suelo.

Otro elemento importante que es un micronutriente esencial para el crecimiento bacteriano, pero que a concentraciones elevadas es sumamente tóxico es el cobre. El uso frecuente de soluciones de este elemento para el control de enfermedades en plantas se considera el factor selectivo de los microorganismos resistentes al metal (Moraga *et al.*, 2003). Sin embargo, estudios realizados en el sur de Costa Rica, por García (1997) señala que plantas de plátano en suelos de alto contenido de cobre, no presentan niveles foliares altos, aunque sí en las raíces, las cuales presentan anomalías de crecimiento hacia la superficie del suelo, lo que parece no afectar la productividad de las plantas. A partir de tales estudios se concluyó que el alto contenido de cobre en raíces no es trasladado a otras partes de la planta.

En arroz, al aplicar dosis variables de Zn, Cu y Ni, se observaron interacciones significativas entre Zn-Cu y Zn-Cu-Ni, sin embargo se observó mayor toxicidad de Cu y Ni que de Zn. Los contenidos de metales, en grano se incrementaron con el aumento en los contenidos de metales en el suelo, independientemente de las combinaciones (Sukkariyah *et al.*, 2005). Al determinar las concentraciones de Pb, Cd y Zn presentes en verduras

cultivadas en suelos con concentraciones promedio de 2.5, 120 y 172 ppm respectivamente, se observó que las hojas contenían mayores concentraciones de Pb, Cd y Zn que las raíces y los frutos, excepto col y brócoli, las cuales absorbieron menos plomo, mientras lechugas y espinacas llegaron a absorber entre 41 y 45 mg/kg de Pb (Boon y Soltanpour, 1992).

Los iones de metales divalentes en Zn, Cd, Hg, Cu y Pb sobre la actividad ATPasa en una fracción de membrana de plasma en raíces aisladas de *Zea mays*, inhiben la actividad ATPasa en todos los casos y Zn-ATP y Cd-ATP son sustratos alternativos para la enzima, mostrando que tanto K_m como V_{max} para el Zn-ATP y sustratos de Cd-ATP son mucho más bajo que para Mg-ATP en sustratos acostumbrados (Reid *et al.*, 2004; Kennedy y Gonsalves, 1989).

Méndez *et al.* (2005) evaluaron el efecto de la contaminación con petróleo en dos suelos sobre los caracteres de la nodulación en el cultivo de frijol (*Vigna unguiculata*). Obteniendo mayor peso de nódulos en la planta control (0 %) seguido por 3% de contaminación y este superó a los pesos obtenidos en 6 y 9%, siendo estos últimos similares entre sí, inhibiendo la producción de nódulos a partir de una contaminación con petróleo de 6% lo que indica que esta impide la fijación de nitrógeno atmosférico.

Ferrera-Cerrato *et al.* (2007) evaluaron la bioestimulación con fertilización inorgánica (solución nutritiva) u orgánica (vermicomposta de café) de *Phaseolus coccineus* para determinar si tiene potencial para limpiar un suelo contaminado con combustóleo (50 000 mg kg⁻¹). Evaluaron el crecimiento de la planta, poblaciones microbianas, y la desaparición cualitativa de hidrocarburos del combustóleo mediante GC-MS, teniendo como resultado que el combustóleo redujo significativamente ($p \leq 0.05$) el crecimiento de la planta. Concluyendo que la fertilización redujo los hidrocarburos del combustóleo en la rizosfera, *Phaseolus coccineus* tiene potencial de uso en la fitorremediación de suelos contaminados con combustóleo; además, la fertilización orgánica e inorgánica contribuyó en la reducción de los hidrocarburos del combustóleo en la rizósfera. El efecto negativo del combustóleo en el crecimiento fue compensado con la FInor y la FOrg, mientras que la población microbiana de la rizósfera contaminada fue parcialmente estimulada por la planta o por la fertilización.

Sangabriel *et al.* (2006) realizaron un estudio en un invernadero y evaluaron la tolerancia y crecimiento de tres especies de leguminosas (*Clitoria ternatea*, *phaseolus coccineus*, *Cicer arietinum*) y tres gramíneas (*Brachiaria híbrido*, *brachiaria brizantha* y *Panicum máximum*) en suelo contaminado con combustóleo, así como su capacidad de reducir el contenido de hidrocarburos provenientes del mismo. Sembraron semillas en el suelo no contaminado y en el suelo colectado de la comunidad Frijol Colorado, Veracruz que fue contaminado por un derrame accidental de combustóleo ($50,000 \text{ mg Kg}^{-1}$). A los 90 días, se evaluó la tolerancia, crecimiento, la población microbiana en la rizosfera y la degradación del combustóleo. *Phaseolus coccineus* fue la única leguminosa con tolerancia y crecimiento en suelo contaminado; mientras que las tres gramíneas no fueron afectadas negativamente por la presencia del contaminante, aunque el híbrido de *Brachiaria* mostro mayor crecimiento, sin embargo la rizosfera de *P. coccineus* presento mayor población microbiana en el suelo contaminado en comparación con las plantas restantes. La degradación de combustóleo evaluada cualitativamente por GC-MS, fue mayor en la rizosfera de *B. brizantha* y *Panicum máximum*. Mientras que *P. Coccineus* presento una degradación similar observada en suelo contaminado sin planta.

Quiñones-Aguilar *et al.* (2003) establecieron un experimento de 22 días donde los factores y niveles fueron tipo de maíz (10 recolecciones procedentes de Minatitlán, Veracruz, y el híbrido 'Jornalero') y concentración de petróleo en el suelo (0, 15 000, 25 000 y 35 000 mg kg^{-1}). Evaluaron el porcentaje de emergencia de las plántulas, altura de planta, longitud de raíz, volumen radical, peso seco total, índice de crecimiento en longitud de tallo y raíz e índice de acumulación de biomasa seca. Encontrando que la concentración de petróleo 25 000 mg kg^{-1} suelo favoreció el crecimiento de las plántulas de maíz.

Rivera-Cruz *et al.* (2005) evaluaron la respuesta en crecimiento, biomasa total, número de nódulos y ausencia y presencia de leghemoglobina en los nódulos de cuatro leguminosas a diferentes concentraciones de petróleo nuevo (recién extraído) o intemperizado (expuesto al ambiente por más de 20 años). Realizaron dos ensayos de fitotoxicidad en invernadero. El primero con plantas de chipilín silvestre (*Crotalaria sp*) durante 120 días, con concentraciones de petróleo de 150 (suelo testigo), 7500, 25000, 50000 (nuevo) y 79457 (intemperizado) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de hidrocarburos totales del petróleo (HTP), base seca. El segundo ensayo fue durante 150 días, con dormilona (*Mimosa sp*), guaje (*Leucaena sp*) y zarza (*Mimosa pigra*) con concentraciones de 150, 50000, 79457, 100000 y 150000

mg·kg⁻¹ de HTP, base seca. Hubo diferencias estadísticas significativas en todas las variables evaluadas, que se asociaron negativamente con la presencia de petróleo en el suelo. Chipilín silvestre fue la planta más sensible a la exposición al petróleo y evidenció mejor su fitotoxicidad, por lo que podría ser utilizada como especie fitoindicadora de suelos contaminados con petróleo. El número de nódulos con leghemoglobina fue el indicador más sensible para medir el efecto fitotóxico del petróleo.

Gardezi *et al.* (2006) realizaron un estudio en un invernadero donde emplearon la *Leucaena leucocephala*, para secuestrar Cu, realizaron la especiación del Cu en suelo nativo y en el suelo con Cu agregado a diferentes tiempos de crecimiento de las plantas, 30, 60, 90 y 180, también determinaron en hojas y tallos durante los periodos de crecimiento de las plantas. La distribución del Cu (especiación) en horizontes a: 5, 10 y 30 cm, del suelo sin adicionar Cu. Los dos primeros horizontes presentaron la mayor acumulación de Cu, en la especiación la acumulación más importante del Cu fue en las tres últimas fracciones: F6 que contiene el Cu atrapado entre las estructuras cristalinas de silicoaluminatos, óxidos de hierro cristalino (este material no es disponible para la planta), F5 fracción que está relacionada con las especies acomplejadas con la materia orgánica natural y asociada también a sulfuros y por último F4 donde el cobre se asocia al óxido hidratado de hierro. Del monitoreo en hojas y tallo, se observó que la mayor acumulación fue en tallo. Por las condiciones de los resultados esta planta puede ser utilizada como fitorremediadora.

Puga *et al.* (2006) analizaron concentraciones totales de arsénico (As) y de zinc (Zn) en plantas dominantes en sitios ubicados a diferentes distancias en la presa de jales, obteniendo como resultado que a medida que las plantas están más alejadas de la presa los niveles de concentración de As y Zn disminuyen al igual que en el suelo, es decir que las plantas estudiadas concentran más estos elementos al estar más cerca de la presa y la parte en donde acumulan más estos elementos es en las hojas y las especies que presentaron las concentraciones más altas fueron el huizache (*Acacia farnesiana*), el táscate (*Juniperus deppeana*), la jarilla (*Baccharis glutinosa*), el mesquite (*Prosopis juliflora*) y el zacate pata de pollo (*Cynodon dactylon*).

Kramer *et al.* (1997) estudiaron a las plantas hiperacumuladoras para extraer metales del suelo en altas concentraciones (más de 0.1%) de Ni, Co y Zn, y más de 1% de Mn en la biomasa base seca, también investigaron el papel de la tolerancia y del transporte del Ni en

estas plantas, concluyendo que los datos encontrados sugieren que la tolerancia del Ni es suficiente para explicar la hiperacumulación en estas plantas a diferencia de los arvenses que no acumulan metales y son muy sensibles.

Sánchez-Moreno *et al.* (2006) estudiaron nematodos en lodo negro, que contenían niveles de metales pesados (Cu, Pb, Zn y Ni) a lo largo de la cuenca del río de Guadamar, realizaron un estudio de campo y de laboratorio, obteniendo como resultado que los metales pesados residuales influían negativamente en la comunidad de nematodos del suelo, afectando la cuenca de río de Guadamar el Cu y Pb, en un grado inferior, y el Zn fue el elemento que mas impacto ecológicamente.

Máthé-Gáspár y Antón (2005) estudiaron los factores que influyen en la absorción de Pb y Zn y los efectos sobre el contenido de metales pesados en 20 cultivos y de especies de plantas silvestres, las cuales agruparon en base a su capacidad de acumulación y susceptibilidad de metales pesados en especies acumuladoras, tolerantes, moderadamente acumuladoras, no acumuladoras y no tolerantes.

Yanqun *et al.* (2005) identificaron 220 plantas que acumulaban Pb, Zn y Cd que crecían en un área de explotación minera, fueron comparadas con plantas no contaminadas, encontrando que todas ellas tenían capacidad de hiperacumular Pb, Zn, y Cd.. Estas especies de plantas son hiperacumuladoras de metales pesados, y pueden ser utilizadas como fitorremediadoras.

Peralta *et al.* (2000) realizaron estudios preliminares donde aplicaron varias dosis (0, 5, 10, 20 y 40 ppm) de Cd, Cr, Cu, Ni y Zn en plantas de alfalfa creciendo en medios sólidos, demostraron que las plantas de la alfalfa (*Medicago sativa*) pueden crecer en suelos contaminados con metales pesados, no siendo afectada la germinación de la semilla y el crecimiento vegetal.

Wang *et al.* (2009) investigaron los efectos del zinc (Zn) sobre *Hydrilla verticillata* cultivado en una solución control junto con 0.05-30 mgL⁻¹ de Zn, obteniendo como

resultado que el Zn induce el desequilibrio de nutrientes y el daño oxidativo y acelera las reacciones antioxidantes.

Youngman *et al.* (1998) analizaron metales pesados (Zn, Pb y Cd) en raíces de hierbas que crecían en dos suelos en una fundidora abandonada; los resultados mostraron que para ambos tipos de sustrato había acumulación significativa de los tres metales en los sistemas de la raíz con concentraciones relativamente bajas de estos metales. La división entre los tallos y las raíces para los tres metales en ambos tipos del suelo hizo un promedio del 1:5 (tallo: raíz). Había poca correlación entre la raíz y tallo debido a las concentraciones de estos metales. Cossio *et al.* (2004) mencionan que la vacuola o pared celular en las hojas desempeña un papel principal en la hiperacumulación de metales pesados.

Lasat (2002) menciona que la remediación en sitios contaminados con metales tóxicos es particularmente desafiadora, ya que no son compuestos orgánicos; los metales no pueden ser degradados, y la limpieza requiere generalmente su retiro, pudiendo ser muy costoso, porque se emplean procesos fisicoquímicos muy rigurosos que inhiben la fertilidad del suelo, impactando negativamente en el ecosistema. La fitorremediación se ha propuesto como una tecnología alternativa rentable y respetuosa del medio ambiente. Algunas investigaciones indican que esta técnica tiene el potencial para quitar muchos metales tóxicos del suelo. Pero a pesar de este potencial, la fitorremediación aun no es una técnica muy conocida.

Lombi *et al.* (2001) realizaron un experimento donde compararon dos estrategias de fitorremediación: fitoextracción natural usando el Zn y Cd en una planta hiperacumuladora (*Thlaspi caerulescens*), comparada con una planta fitoextractora usando el maíz (*Zea mays* L.) químicamente con el ácido etilendiaminotetracético (EDTA). El estudio utilizó un suelo industrial contaminado y un suelo agrícola contaminados con los metales del lodo de aguas residuales, obteniendo como resultado que para *T. caerulescens* acumularon más de 8 Kg⁻¹ Cd y 200 kg⁻¹ Zn en el suelo industrial contaminado, representando 43 y el 7% de los dos metales en el suelo. En cambio, la alta concentración de Cu en el suelo agrícola redujo seriamente el crecimiento de *T. caerulescens*, limitando su potencial de fitoextracción.

Chen *et al.* (2004) evaluaron el comportamiento de metales pesados bajo contaminación combinada del diclorofenol 2,4 (2,4-DCP); muestrearon suelo contaminado de metales pesados en aéreas industriales, lo pretrataron con $100 \mu\text{g g}^{-1}$ 2,4-DCP por un mes. Los metales predominantes fueron el Cu y el Zn en la solución del suelo. Los resultados indicaron que con respecto al Cu, el suelo tratado fue más eficaz que con el Zn en el suelo, que fue constante con sus absorciones químicas y bajo en las arcillas, los óxidos y el humus de suelo.

Sterckeman *et al.* (2004) evaluaron la absorción de Cd en maíz (*Zea mays* L.) y Cd-Zn en ecotipos de *T. caerulescens* ambos, cultivados en un suelo enriquecido con sulfato de cadmio, teniendo como resultado que la acumulación de Cd en las plantas depende del nivel de Cd en el suelo.

Yang *et al.* (2004) estudiaron la cantidad de Cd en tallos de *Sedum alfredii* determinando que esta planta tiene una capacidad extraordinaria de tolerar e hiperacumular Cd lo cual proporciona un material vegetal importante para entender los mecanismos de Cd/Zn en plantas fitorremediadoras hiperacumuladoras en suelos contaminados de metales pesados.

Fodor (2006) estudio los metales pesados que inhiben la adsorción, absorción y el desplazamiento del hierro en las plantas hiperacumuladoras y su influencia en el medio ambiente. Encontrando que los metales tóxicos se conservan generalmente en las raíces y hay poca acumulación en el tallo, y las plantas sufren de diversos niveles de tensión debido en muchas ocasiones a la fuente escasa de hierro. Sin embargo, hay ciertas especies o variedades de plantas que pueden acumular mil veces más concentraciones de metales pesados en sus tallos. Se ha sugerido que estas plantas pueden ser una herramienta barata para la descontaminación de suelos, llamada fitorremediación. Las plantas no acumuladoras se pueden también utilizar para la fitoextracción de metales pesados y quelatos directamente al suelo.

Mulligan *et al.* (2001) describen a los metales incluyendo el Pb, el Cr, el Ar, el Zn, el Cd, el Cu y el Hg como dañinos al ambiente y la salud humana como resultado de sus movilidades y solubilidades. La selección del método más apropiado de la remediación del

suelo y del sedimento depende de las características del sitio, de la concentración, de los tipos de agentes contaminantes que se quitarán, y del uso final del medio contaminado. Los acercamientos incluyen el aislamiento, la inmovilización, la reducción de la toxicidad, la separación física y la extracción. Muchas de estas tecnologías han sido usadas como el método de la solidificación /estabilización. La solidificación encapsula los contaminantes en una matriz sólida mientras que la estabilización implica la formación de vínculos químicos para reducir movilidad del contaminante. Esta investigación ha indicado que los biosulfatantes, tensioactivadores biológico producidos, pueden también ser agentes prometedores para realzar el retiro de metales de suelos y de sedimentos contaminados.

Angelova *et al.* (2005) mencionan que la contaminación de metales pesados en suelo y agua puede convertirse en un problema grave para la agricultura y la salud. Se han propuesto tecnologías alternativas para la remediación del suelo como las especies de plantas acumuladoras de metales pesados en tallo. La acumulación de Cd, Pb y Zn por diversas plantas cultivadas en suelos contaminados con metales pesados en plantas se dividieron en cuatro grupos de acuerdo a su capacidad de acumular los metales pesados: (i) acumulador bajo (maíz y guisantes); (ii) acumulador moderado (cebada, lentejas, gramo, girasol, sésamo, hinojo, coriandro, eneldo, hierbabuena, albahaca, algodón, patatas, datura), (iii) alto acumulador (trigo, soja, habas, cacahuetes, anís, mostaza negra, lino, cáñamo, remolacha, remolacha forrajera) y (iv) hiperacumuladoras (Salvia y tabaco). Cada una de estas plantas en estos grupos puede crecer con éxito en suelos levemente contaminados.

April y Sims (1990) evaluaron hierbas sembradas en suelos que contenían productos químicos orgánicos tóxicos; utilizaron ocho tipos de hierbas de pradera y evaluaron cuatro suelos con hidrocarburos aromáticas policíclicas (sHAP) en un suelo arenoso. El grado de desaparición del HAP en el suelo arenoso fue mayor que en el suelo vegetal.

Larenas y De Viana (2005) estudiaron la respuesta de germinación y supervivencia de *Tithonia tubaeformis* a contaminantes derivados del petróleo. Realizaron un bioensayo analizando: contaminantes (gasoil: 0, 1.96%, 3.93%, aceite usado de auto: 0, 2.75%, 5.5%) y nutrientes (con y sin adición). Se encontraron diferencias en el porcentaje y la velocidad

de germinación. La gasolina en ambas concentraciones fue el más tóxico. La concentración de HTP en el sustrato disminuyó (64% en los tratamientos con gasolina y 51% con los con aceite).

Iannacone y Alvariño (2005) evaluaron el efecto fitotóxico del Cr^+ , Hg^+ y Pb^+ en forma de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), cloruro de mercurio (Cl_2Hg) y acetato de plomo ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$), respectivamente, sobre el crecimiento radicular de cuatro especies de plantas superiores terrestres: cebolla (*Allium cepa*, Liliaceae), betarraga (*Beta vulgaris*, Chenopodiaceae), arroz (*Oriza sativa*, Poaceae) y rabanito (*Raphanus sativus*, Brassicaceae) a 192 h (8 días) de exposición. Se realizaron bioensayos de toxicidad para cada metal y para cada especie de planta. La secuencia en orden ascendente para la concentración de inhibición media (CI_{50} en mg L^{-1}) del crecimiento radicular de las semillas a 192 h fue en la mayoría de los casos: $\text{Hg}^+ > \text{Cr}^+ > \text{Pb}^+$.

Trujillo *et al.* (1995) realizaron un muestreo en la parte media del microrrelieve de sitios representativos en función de la distribución de los pozos en el estado de Tabasco, en donde encontraron contenidos bajos de metales pesados, destacando el Ni, Zn y Cr en los fluvisoles, los niveles mas altos de estos contaminantes se encontraron en suelos con mayores contenidos de MO y menor pH, como es el caso del fluvisol de los campos castarrical y Cunduacan. Jones *et al.* (2003) señalan también que los valores de Ni y V superan los 50 mg kg^{-1} , que aunque no rebasan los niveles críticos si son considerados altos para la zona.

Trujillo *et al.* (1995) tomaron muestras de suelos compuestas y dirigidas de la capa superficial del suelo de 0-30 cm en varios campos petroleros en Comalcalco, Tabasco, concluyendo que encontraron niveles críticos de Ni en cinco de los siete campos, cuatro de Zn y solamente uno de Pb.

III OBJETIVOS E HIPOTESIS

3.1. Objetivos

- a) Conocer el porcentaje de germinación de semillas de cinco leguminosas en suelos colectados a diferentes distancias de la fuente de contaminación por metales pesados (Cu, Zn, Pb, Ni y Cd).
- b) Evaluar el efecto remediador de cinco especies vegetales en suelos contaminados por metales pesados bajo condiciones de invernadero.
- c) Conocer la capacidad de las especies vegetales para extraer metales pesados en cada uno de los suelos en estudio.
- d) Determinar el órgano donde se acumulan de preferencia los elementos pesados en las planta (Hoja, tallo y raíz).

3.2. Hipótesis

- a) Las semillas de leguminosas tienen la capacidad de germinar en suelos contaminados por elementos pesados.
- b) Las especies vegetales como *C. ternatea* y *L. leucocephala* absorben y acumulan más elementos pesados que *L. versicolor*, *L. montanus* y *L. leptophyllus*.
- c) Entre más cerca estén las especies de la fuente de contaminación, estas acumulan mas elementos pesados en sus estructuras.
- d) Las hojas son los órganos de las plantas que mayor cantidad de metales pesados acumulan.

IV MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación sobre fitorremediación de suelos contaminados por elementos pesados se condujo en los invernaderos del Colegio de Postgraduados Montecillo, Estado de México. Este trabajo se llevó a cabo entre los meses de febrero a abril del 2007. El suelo utilizado en este experimento se colectó en el municipio de Centla, Tabasco, del campo denominado Luna, pozo escuintle No. 19, como se indica en la Figura 1. Las muestras se obtuvieron a tres distancias (20, 50 y 100 m) a partir del pozo de perforación, a los cuales se les llamó suelo A, B y C (Figura 2). Las muestras A, B y C se componen de cuatro submuestras tomadas de cuatro puntos equidistantes de cada una de las distancias, en forma circular, mismas que se integraron en una sola muestra compuesta de 200 kg en total para cada uno de los sitios (A, B y C).

El criterio que se utilizó para colectar las muestras antes señaladas, fue considerando el nivel de contaminación que se ha observado en este y otros campos a partir del pozo de perforación. Esto es tomando en consideración que a menor distancia la contaminación es mayor, y menor a mayor distancia, de tal manera que en este trabajo se seleccionaron los intervalos de muestreo 20, 50 y 100m a partir del pozo de perforación. Este tipo de muestreo se ha utilizado y recibido el nombre de rectangular o polar para áreas contaminadas, según Mason (1992) y Valencia y Hernández (2002).

No existen reglas generales para realizar un muestreo de suelos, puesto que cada sitio requiere de un muestreo en particular. Por esto, es importante realizar un esquema de muestreo para cada sitio, el cual consiste en la ubicación óptima de los puntos de muestreo y debe de ser lo suficientemente flexible para permitir ajustes durante las actividades en campo. Por ejemplo, la falta de acceso a los sitios de muestreo preseleccionados, las formaciones de subsuelo no previstas o las condiciones climáticas, pueden demandar ajustes importantes en los planes de muestreo (Valencia y Hernández, 2002).

Las muestras compuestas de cada distancia se secaron al sol y se tamizaron en una malla de 2 mm. Se tomaron muestras representativas para la caracterización física y química de los suelos.

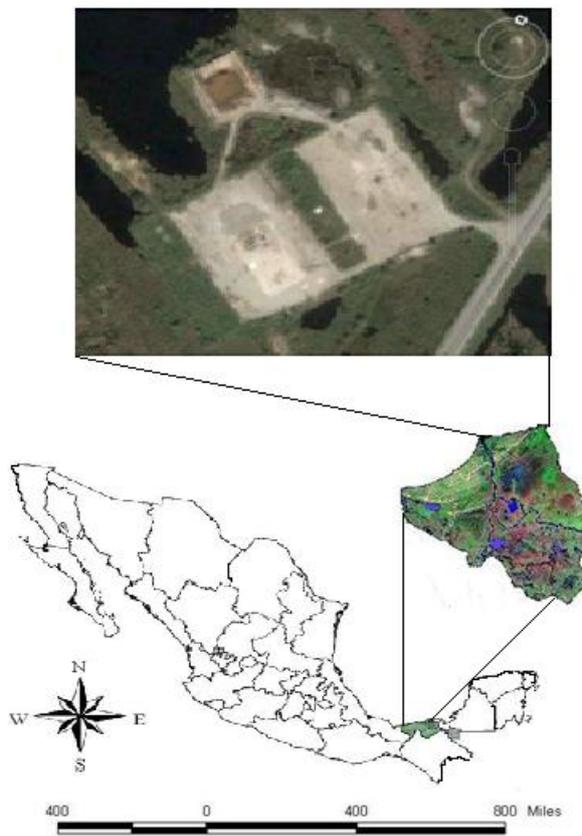


Figura 1. Campo petrolero ubicado en el municipio de Centla, Tabasco.

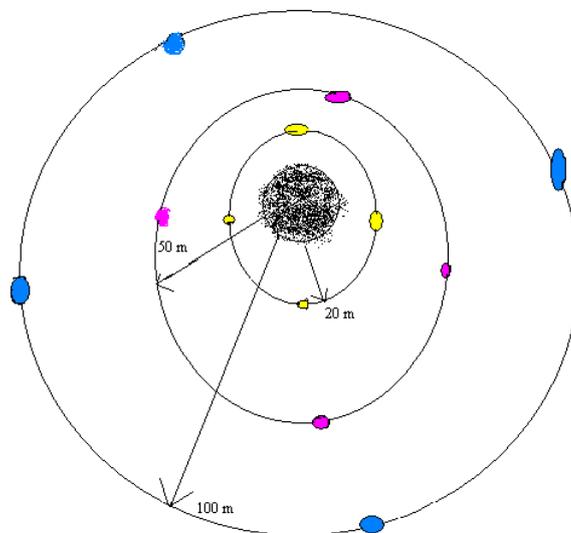


Figura 2. Esquema de muestreo de suelo.

4.1. Análisis de los suelos

Se analizaron los contenidos totales de Cu, Zn, Pb, Ni y Cd, usando la solución extractora de DTPA 0.005M – TEA 0.1M – CaCl₂ 0.01M (Soil Analysis Hand Book of Reference Methods, 2000) para analizar las siguientes características físicas y químicas: (densidad aparente, textura, pH, Materia orgánica, N, P y K), la densidad aparente, por el método de la probeta, textura con el hidrómetro de Boyoucos, la determinación de pH se hizo con un potenciómetro relación suelo-agua 1:2 (Jackson, 1976), el contenido de materia orgánica por el método de Walkley y Black (Jackson, 1976), el nitrógeno total se determinó en el MicroKjeldahl, el P disponible se extrajo por el método Bray I en tanto que el K se determinó por fotometría de flama y el contenido de metales pesados por espectrometría de absorción atómica (anexo 1).

4.2. Germinación de semillas

Este estudio se llevó a cabo para conocer el comportamiento de las semillas de las cinco especies (*L. montanus*, *L. leptophyllus*, *L. versicolor*, *C. ternatea* y *L. leucocephala*) que se utilizaron en este experimento y así garantizar el mejor tratamiento de escarificación para ser utilizado en el material sujeto a la prueba de acumulación de metales pesados. Las semillas fueron colectadas durante los meses de Mayo a Agosto del 2006 (Alderete-Chávez *et al.*, 2008). Se sembraron 10 semillas de cada especie en vasos de unicel de 250 gr, previamente escarificadas con calor a temperaturas de 110 y 140 °C en una estufa por 2 y 5 minutos con la finalidad de simular la exposición de las semillas al fuego, con H₂SO₄ al 98% por 12 y 25 minutos para simular el paso de las semilla por el tracto digestivo de sus consumidores y escarificación mecánica la cual consistió en la ruptura de la testa con una navaja para simular el daño por causas naturales. Las semillas tratadas con los procedimientos de escarificación anteriores se sembraron en suelos con tres niveles de contaminación (anexo 1), mismos que fueron colocadas en el invernadero.

El experimento tuvo un tiempo de duración de 35 días a partir de la siembra y se contabilizó diariamente el número de plántulas emergidas para estimar el porcentaje de germinación por tratamiento para cada una de las especies, terminando el experimento al obtener el 100% de germinación. El diseño utilizado fue completamente al azar con tres

tratamientos, tres sustratos y cuatro repeticiones para las cinco especies. Para las pruebas de ANOVA y comparación de medias se utilizó el programa SAS versión 8.

4.3. Evaluación de elementos pesados en plantas

Los sustratos analizados cuyas características físicas y químicas se indican en el Cuadro 1, se utilizaron para llenar 90 macetas de 4Kg de capacidad. Se sembraron 10 semillas de cada especie (*L. montanus*, *L. leptophyllus*, *L. versicolor*, *C. ternatea* y *L. leucocephala*), escarificadas en forma mecánica, ya que fue el tratamiento de escarificación que dio mejores resultados en las pruebas de germinación previamente realizadas en este estudio.

El experimento tuvo un tiempo de duración de 80 días. Durante este periodo se hicieron tres muestreos sacando de dos a tres plantas por maceta cada 30 días para cuantificar el desarrollo de estas en cada uno de los sustratos, las plantas, al sacarlas fueron lavadas con agua corriente y después con agua destilada para después medirlas y posteriormente pesarlas en una balanza analítica, separándolas en raíz, tallo y hojas, para determinar el peso fresco de cada una de las partes, enseguida se colocaron en bolsas de papel y se secaron en una estufa a 70 °C por 72 horas, y después se volvió a pesar para determinar el peso seco en una balanza analítica (Jones *et al.*, 2003).

Se analizaron los contenidos de metales pesados en las diferentes partes de la planta (raíz, tallo y hojas); las muestras de tejidos para su análisis respectivo fueron enviadas a los laboratorios de química de suelos en el área de Edafología del Colegio de Postgraduados. Los elementos de Cd, Zn, Ni, Pb, y Cu fueron analizados en extractos de raíz, tallo y hojas, por el método de digestión húmeda (Ulrich *et al.*, 2009) utilizando 0.5 g de material vegetal + 1 ml de agua destilada + 1 ml de ácido perclórico y 4 ml de H₂SO₄ a 80°C por 24 horas, posteriormente se filtró y el extracto obtenido fue aforado a 25 ml con agua desionizada. Del extracto obtenido se determinaron los elementos pesados utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica (Pekín-Elmer, 3110). Las concentraciones de los elementos se obtuvieron en base a materia seca expresadas en mgKg⁻¹.

4.4. Análisis estadístico

Los tratamientos se establecieron en un diseño factorial con tres sustratos y cinco leguminosas. Cada tratamiento tuvo seis repeticiones produciendo un total de 90 unidades experimentales.

A todas las variables dependientes evaluadas se les realizó el ANOVA seguida por una prueba múltiple de comparación de medias de Tukey (nivel de significancia $p < 0,05$). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico SAS versión 8 (anexo 2).

V RESULTADOS

5.1. Escarificación y germinación de cinco leguminosas.

El mayor porcentaje de germinación se logró con el tratamiento mecánico para todas las especies germinando en un rango de 80 a 100 % de las semillas (figura 3). La especie que mostró el mejor % de germinación fue *L. leucocephala* y la especie que menor % de germinación presentó fue *L. leptophyllus* (cuadro 1). Al realizar el análisis de varianza se encontró que para la germinación de semillas, existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos, donde al menos uno de ellos es diferente (cuadro 2, figura 4). El suelo donde mejor germinaron las especies fue en el A (20m) cerca de la fuente de contaminación (figura 5).

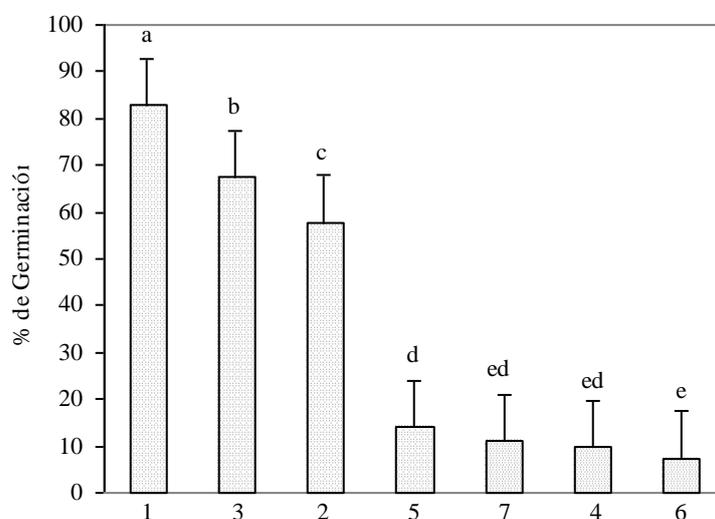


Figura 3. Pruebas de Tukey ($\alpha=0.05$) para siete tratamientos de escarificación 1=Mecánica, 2= H_2SO_4 por 12 min, 3= H_2SO_4 por 25 min, 4= $110^\circ C$ por 2 min, 5= $110^\circ C$ por 5 min, 6= $140^\circ C$ por 2 min, 7= $140^\circ C$ por 5 min.

Cuadro 1. Germinación de cinco leguminosas en tres sustratos diferentes (A: 20m, B: 50 y C: 100m) y siete tratamientos de escarificación, bajo condiciones de invernadero.

Especie	Tratamientos							
	Suelo	1	2	3	4	5	6	7
	% de Germinación							
<i>L. versicolor</i>	A	95	40	80	10	5	10	5
	B	45	75	55	5	10	0	10
	C	70	35	10	15	20	5	10
<i>L. montanus</i>	A	95	100	100	25	25	15	20
	B	85	60	95	10	10	10	5
	C	70	35	35	10	20	15	10
<i>L. leptophyllus</i>	A	80	35	50	10	15	0	0
	B	65	55	55	0	15	0	0
	C	70	15	65	20	5	0	0
<i>L. leucocephala</i>	A	100	100	100	10	25	5	25
	B	100	100	100	10	20	5	40
	C	90	100	100	10	60	30	35
<i>C. ternatea</i>	A	100	35	100	0	10	0	0
	B	100	35	75	0	0	10	0
	C	100	50	75	10	0	0	0

Escarificación 1=Mecánica, 2=H₂SO₄ por 12 min, 3=H₂SO₄ por 25 min, 4=110 °C por 2 min, 5=110°C por 5 min, 6=140°C por 2 min, 7=140°C por 5 min.

Cuadro 2. Análisis de varianza para la germinación de cinco especies de leguminosas en tres sustratos y siete tratamientos de escarificación.

FV	GL	SC	CM	F	p<0.05
Especie	4	46495.23	11623.8	105.22	0.0001
Suelo	2	2024.28	1012.14	9.16	0.0001
Escarificación	6	376529.04	62754.84	568.04	0.0001
Esp-suelo	8	12387.61	1548.45	14.02	0.0001
Esp-Esc.	24	35244.76	1468.53	13.29	0.0001
Suelo-Esc.	12	10182.38	848.53	7.68	0.0001
Esp-Suelo-Esc.	48	41772.38	870.25	7.88	0.0001
Error	315	34800	110.47		
Total	419	559435.71			

Especies de leguminosas (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*), sustratos (A=20, B=50 y C=100m), tratamientos (Mecánica, H₂SO₄ por 12 min, H₂SO₄ por 25 min, 110 °C por 2 min, 110°C por 5 min, 140°C por 2 min, 140°C por 5 min)

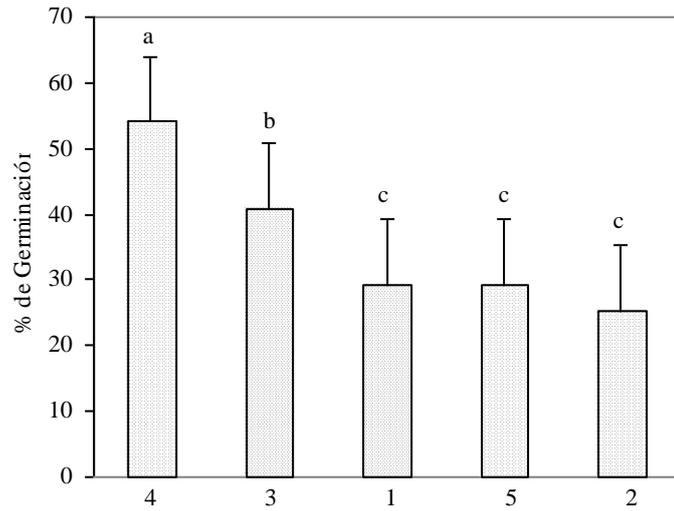


Figura 4. Pruebas de Tukey ($\alpha=0.05$) para germinación de semillas en cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea*.

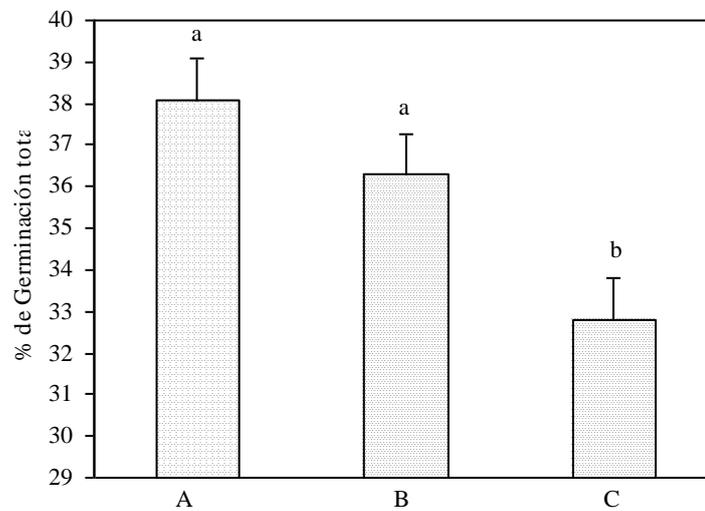


Figura 5. Pruebas de Tukey ($\alpha=0.05$) para la germinación en semillas de cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea* en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m).

5.2. Concentración de metales pesados en plantas de leguminosas creciendo en diferentes sustratos bajo condiciones de invernadero.

5.2.1. Concentración de Cu en plantas de cinco leguminosas sembradas en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero.

El análisis de varianza mostró que para la concentración de Cu, existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos, donde al menos uno de ellos es diferente de los demás (cuadro 3, figura 6). También existen efectos significativos de los factores estudiados: Especie, suelo, parte de la planta (raíz, tallo y hojas) y la variable evaluada: Concentración de Cu al igual que en las interacciones en especie-suelo, especie-parte de la planta, suelo-parte de la planta y especie-suelo-parte de la planta, observándose claramente como *C. Ternatea* acumuló la mayor cantidad de Cu con 1.26 mg kg^{-1} , mientras que *L. versicolor* fue la especie que menos cantidad de Cu acumuló con 0.08 mg kg^{-1} .

Cuadro 3. Análisis de varianza para concentración de Cu en cinco especies de leguminosas (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*).

FV	GL	SC	CM	F	p<0.05
Especie	4	47.1346	11.7836	4874.92	0.0001
Suelo	2	2.7785	1.3892	574.74	0.0001
PP	2	5.0497	2.5248	1044.54	0.0001
Esp-suelo	8	3.1354	0.3919	162.14	0.0001
Esp-PP	8	3.1425	0.3928	162.51	0.0001
Suelo-PP	4	0.6594	0.1648	68.20	0.0001
Esp-Suelo-PP	16	2.8144	0.1759	72.77	0.0001
Error	225	0.5438	0.0024		
Total	269	65.2586			

PP= parte de la planta, Esp= Especie

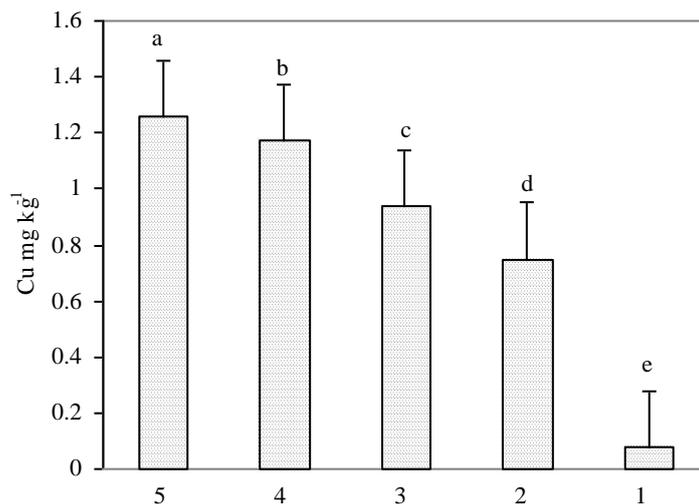


Figura 6. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para la concentración de Cu en plantas de cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea*.

5.2.2. Concentración de Zn en plantas de cinco leguminosas sembradas en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero.

El análisis de varianza mostró que para la concentración de Zn, existen diferencias significativas ($p<0.05$) entre tratamientos, donde al menos uno de ellos es diferente (cuadro 4, figura 7) de los demás, a si como los factores estudiados: Especie, suelo, parte de la planta (raíz, tallo y hojas) y la variable evaluada: Concentración de (Zn) al igual que en las interacciones en especie-suelo, especie-parte de la planta, suelo-parte de la planta y especie-suelo-parte de la planta. En la figura 5 se observa que *L. versicolor* acumuló la mayor cantidad de Zn con 1.48 mg kg^{-1} , mientras que *L. leptophyllus* fue la especie que menos cantidad de Zn acumuló con 0.75 mg kg^{-1} .

Cuadro 4. Análisis de varianza para concentración de Zn en cinco especies de leguminosas (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*).

FV	GL	SC	CM	F	P<0.05
Especie	4	19.5439	4.8859	567.84	0.0001
Suelo	2	4.2772	2.1386	248.54	0.0001
PP	2	44.5925	22.2962	2591.23	0.0001
Esp-suelo	8	19.6106	2.4513	284.89	0.0001
Esp-PP	8	26.3511	3.2938	382.81	0.0001
Suelo-PP	4	10.0449	2.5112	291.85	0.0001
Esp-Suelo-PP	16	21.8769	1.3673	158.91	0.0001
Error	225	146.2972	0.0086		
Total	269	1.9360			

PP= parte de la planta, Esp= Especie

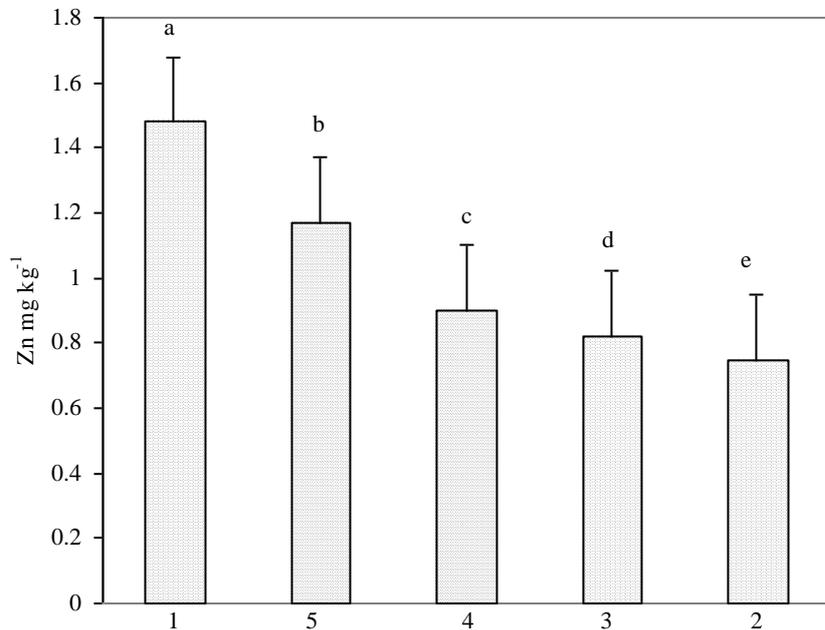


Figura 7. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para la concentración de Zn en plantas de cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea*

5.2.3. Concentración de Pb en plantas de cinco leguminosas sembradas en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero.

El análisis de varianza mostró que para la concentración de Pb, existen efectos significativos ($p < 0.05$) de los factores estudiados (raíz, tallo y hojas) (Cuadro 5, figura 8). También se observa que las interacciones especie-suelo, especie-parte de la planta, suelo-parte de la planta y especie-suelo-parte de la planta son significativas. La figura 6 muestra que *L. leptophyllus* acumuló la mayor cantidad de Pb con 1.91 mg kg^{-1} , mientras que *L. versicolor* fue la especie que menos cantidad de Pb acumuló con 0.60 mg kg^{-1} .

Cuadro 5. Análisis de varianza para concentración de Pb en cinco especies de leguminosas (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*).

FV	GL	SC	CM	F	P<0.05
Especie	4	58.2153	14.5538	2284.48	0.0001
Suelo	2	1.6638	0.8319	130.59	0.0001
PP	2	1.7943	0.8971	140.83	0.0001
Esp-suelo	8	8.8052	1.1006	172.76	0.0001
Esp-PP	8	21.8965	2.7370	429.63	0.0001
Suelo-PP	4	4.8633	1.2158	190.85	0.0001
Esp-Suelo-PP	16	27.0102	1.6881	264.98	0.0001
Error	225	1.4334	0.0063		
Total	269	125.6822			

PP= parte de la planta, Esp= Especie

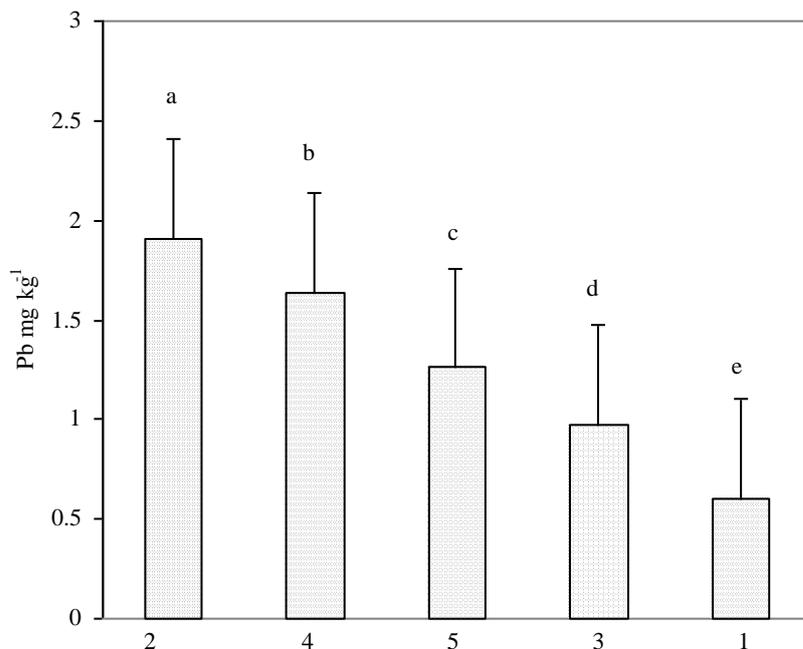


Figura 8. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para la concentración de Pb en plantas de cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea*.

5.2.4. Concentración de Cd en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero.

El análisis de varianza muestra que existen diferencias significativas ($p<0.05$) en la concentración de Cd, ($p<0.05$) entre tratamientos, donde al menos uno de ellos es diferente de los demás (cuadro 6, figura 9). Así como en las variables evaluadas: Especie, suelo, parte de la planta (raíz, tallo y hojas) al igual que en las interacciones en especie-suelo, especie-parte de la planta, suelo-parte de la planta y especie-suelo-parte de la planta. Se observa que *L. leptophyllus* acumuló la mayor cantidad de Cd con 0.34 mg kg^{-1} , mientras que *L. leucocephala* fue la especie que menos cantidad de Cd acumuló con 0.16 mg kg^{-1} .

Cuadro 6. Análisis de varianza para concentración de Cd en cinco especies de leguminosas (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*).

FV	GL	SC	CM	F	p<0.05
Especie	4	1.1693	0.2923	210.57	0.0001
Suelo	2	0.1085	0.0542	39.11	0.0001
PP	2	0.0206	0.0103	7.45	0.0001
Esp-suelo	8	0.2695	0.0336	24.27	0.0001
Esp-PP	8	0.2980	0.0372	26.84	0.0001
Suelo-PP	4	0.2542	0.0635	45.79	0.0001
Esp-Suelo-PP	16	0.7621	0.0476	34.31	0.0001
Error	225	0.3123	0.0013		
Total	269	3.1949			

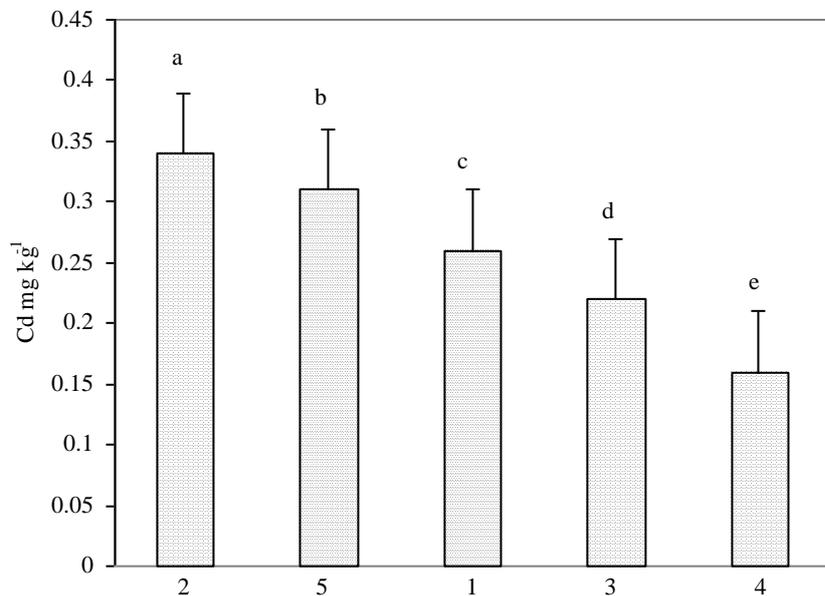


Figura 9. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para la concentración de Cd en plantas de cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea*

5.2.5. Concentración de Ni en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero.

El análisis de varianza mostró que para la concentración de Ni, existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (cuadro 7, figura 10). Así como en las variables evaluadas: Especie, suelo, parte de la planta (raíz, tallo y hojas) al igual que en las interacciones en especie-suelo, especie-parte de la planta, suelo-parte de la planta y especie-suelo-parte de la planta. Se observa claramente como *L. leptophyllus* acumuló la mayor cantidad de Ni con 1.77 mg kg^{-1} , mientras que *L. montanus* fue la especie que menos cantidad de Ni acumuló con 0.71 mg kg^{-1} .

Cuadro 7. Análisis de varianza para concentración de Ni en cinco especies de leguminosas (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*).

FV	GL	SC	CM	F	p<0.05
Especie	4	39.6893	9.9223	3492.14	0.0001
Suelo	2	0.6350	0.3175	111.75	0.0001
PP	2	0.1372	0.0686	24.16	0.0001
Esp-suelo	8	14.2265	1.7783	625.87	0.0001
Esp-PP	8	12.1162	1.5145	533.04	0.0001
Suelo-PP	4	9.9605	2.4901	876.4	0.0001
Esp-Suelo-PP	16	28.1188	1.7574	618.52	0.0001
Error	225	0.6393	0.0028		
Total	269	105.5232			

PP= parte de la planta, Esp= Especie

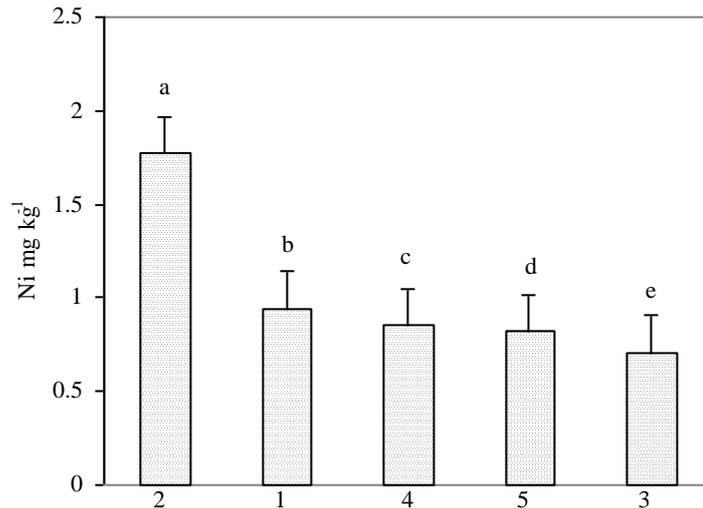


Figura 10. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para concentración de Ni en plantas de cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea*.

5.3. Contenido de metales pesados en plantas de leguminosas creciendo en diferentes sustratos bajo condiciones de invernadero.

En el sustrato A=20m fue donde hubo una mayor respuesta en cuanto a cantidades extraídas por todas las especies en todos los metales pesados (Cuadro 8).

Cuadro 8. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para la fitoextracción de metales en cinco especies de leguminosas en tres sustratos

Sustrato	Metales				
	Cu	Zn	Pb	Cd	Ni
A	0.00007108a	0.00007226a	0.00010963a	0.00001935a	0.00008443a
B	0.00005060b	0.00006094b	0.00008292b	0.00001663b	0.00006464b
C	0.00004924b	0.00005775b	0.00008000b	0.00001432c	0.00006174b

Metales (Cu, Zn, Pb, Cd y Ni), sustratos ((A=20, B=50 y C=100m). Letras diferentes en una columna indican efectos significativos de los sustratos (Tukey $\alpha=0.05$).

5.3.1. Contenido de Cu en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero.

El análisis de varianza mostró que para el contenido de Cu, existen diferencias significativas ($p<0.05$) entre tratamientos (cuadro 9, figura 11), así como en las variables evaluadas: Especie, suelo, parte de la planta (raíz, tallo y hojas) al igual que en las

interacciones en especie-suelo, especie-parte de la planta, suelo-parte de la planta y especie-suelo-parte de la planta. Se observa claramente como *L. leucocephala* tuvo el mayor contenido de Cu, mientras que *L. versicolor* fue la especie con menor contenido.

Cuadro 9. Análisis de varianza para contenido de Cu en cinco especies de leguminosas (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*).

FV	GL	SC	CM	F	p<0.05
Especie	4	4.24^{-7}	1.06^{-7}	319.9	0.0001
Suelo	2	2.69^{-8}	1.34^{-8}	40.6	0.0001
PP	2	1.001^{-7}	5.009^{-8}	151.03	0.0001
Esp-suelo	8	1.76^{-8}	2.205^{-9}	6.65	0.0001
Esp-PP	8	1.73^{-7}	2.163^{-8}	65.2	0.0001
Suelo-PP	4	3.38^{-9}	8.45^{-10}	2.55	0.04
Esp-Suelo-PP	16	3.42^{-8}	2.14^{-9}	6.46	0.0001
Error	225	7.46^{-8}	3.31^{-10}		
Total	269	8.54^{-7}			

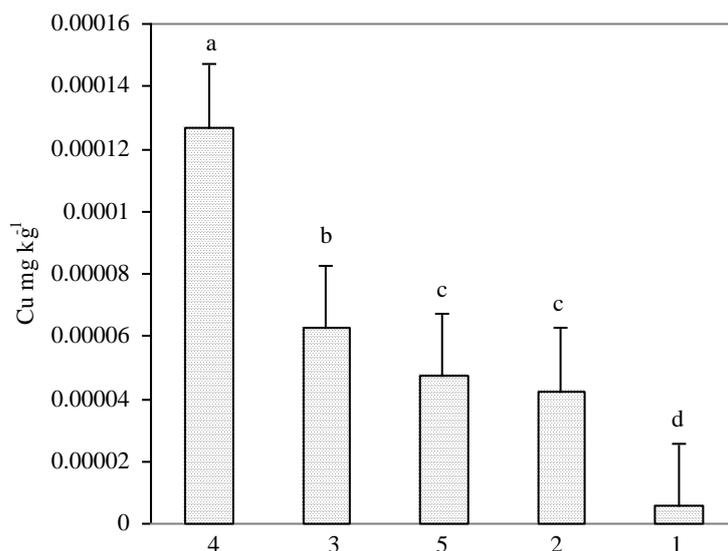


Figura 11. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para contenido de Cu en plantas de cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea*.

5.3.2. Contenido de Zn en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero.

El análisis de varianza mostró que para el contenido de Zn, existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (cuadro 10, figura 12). Lo mismo sucede en las variables evaluadas: Especie, suelo, parte de la planta (raíz, tallo y hojas) al igual que en las interacciones en especie-suelo, especie-parte de la planta, suelo-parte de la planta y especie-suelo-parte de la planta. La prueba de Tukey muestra que *L. leucocephala* tuvo el mayor contenido de Zn, mientras que *C. ternatea* fue la especie con menos contenido.

Cuadro 10. Análisis de varianza para contenido de Zn en cinco especies de leguminosas (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*).

FV	GL	SC	CM	F	p<0.05
Especie	4	1.93^{-7}	4.82^{-8}	118.6	0.0001
Suelo	2	1.04^{-8}	5.23^{-9}	12.87	0.0001
PP	2	4.44^{-8}	2.22^{-8}	54.60	0.0001
Esp-suelo	8	5.72^{-8}	7.16^{-9}	17.60	0.0001
Esp-PP	8	1.58^{-7}	1.88^{-8}	46.32	0.0001
Suelo-PP	4	1.002^{-8}	2.50^{-9}	6.16	0.0001
Esp-Suelo-PP	16	1.016^{-7}	6.35^{-9}	15.61	0.0001
Error	225	9.15^{-7}	4.06^{-10}		
Total	269	6.59^{-7}			

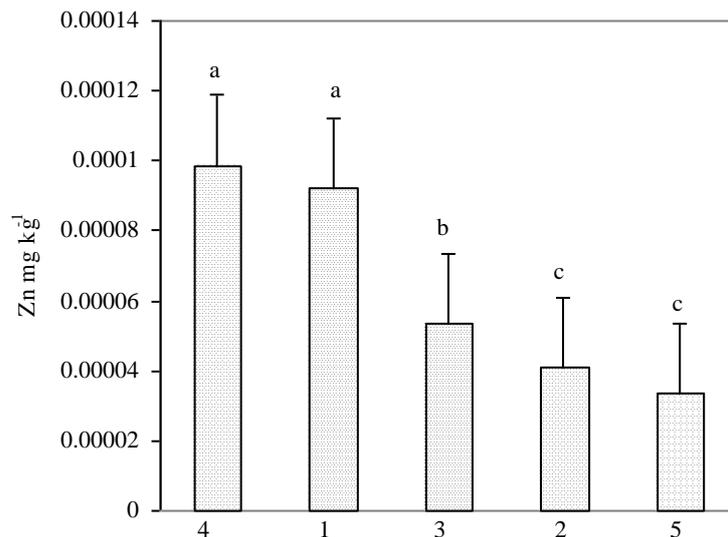


Figura 12. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para contenido de Zn en plantas de cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea*.

5.3.3. Contenido de Pb en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero.

El análisis de varianza mostró que para el contenido de Pb, existen diferencias significativas ($p<0.05$) entre tratamientos (cuadro 11, figura 13). Así como en las variables evaluadas: Especie, suelo, parte de la planta (raíz, tallo y hojas) al igual que en las interacciones en especie-suelo, especie-parte de la planta, suelo-parte de la planta y especie-suelo-parte de la planta. Se observa claramente como *L. leucocephala* tuvo el mayor contenido de Pb, mientras que *L. versicolor* fue la especie con menor contenido.

Cuadro 11. Análisis de varianza para contenido de Pb en cinco especies de leguminosas (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*).

FV	GL	SC	CM	F	p<0.05
Especie	4	6.40^{-7}	1.60^{-7}	194.91	0.0001
Suelo	2	4.80^{-8}	2.40^{-8}	29.21	0.0001
PP	2	3.02^{-7}	1.51^{-7}	184.24	0.0001
Esp-suelo	8	7.57^{-8}	9.46^{-9}	11.52	0.0001
Esp-PP	8	3.44^{-7}	4.30^{-8}	52.44	0.0001
Suelo-PP	4	1.88^{-8}	4.70^{-9}	5.72	0.0002
Esp-Suelo-PP	16	2.82^{-7}	1.76^{-8}	21.51	0.0001
Error	225	1.84^{-7}	8.21^{-10}		
Total	269	1.89^{-6}			

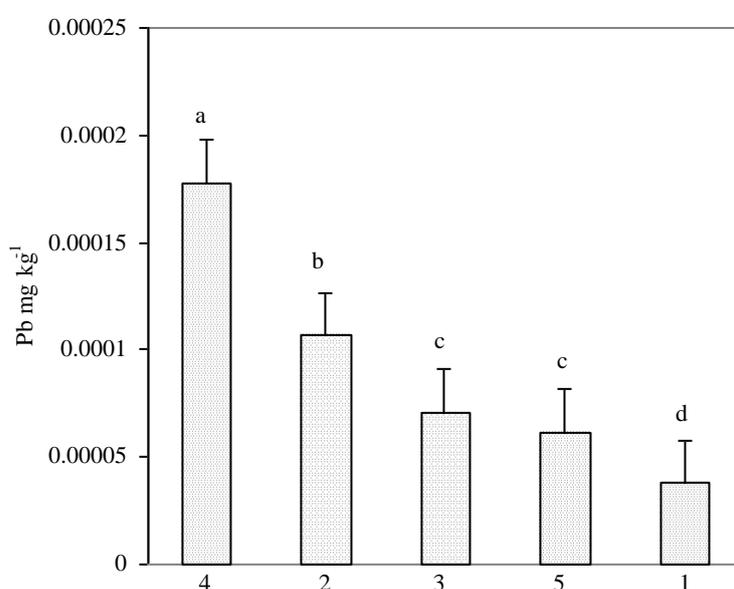


Figura 13. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para contenido de Pb en plantas de cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea*.

5.3.4. Contenido de Cd en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero.

El análisis de varianza mostró que para el contenido de Cd, existen diferencias significativas ($p<0.05$) entre tratamientos (cuadro 12, figura 14), Así como en las variables

evaluadas: Especie, suelo, parte de la planta (raíz, tallo y hojas) al igual que en las interacciones en especie-suelo, especie-parte de la planta, suelo-parte de la planta y especie-suelo-parte de la planta. Se observa que todas las especies tuvieron contenidos similares, no obstante el mayor contenido lo obtuvo la especie de *L. leptophyllus* mientras que *C. ternatea* fue la especie con menor contenido.

Cuadro 12. Análisis de varianza para contenido de Cd en cinco especies de leguminosas (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*).

FV	GL	SC	CM	F	p<0.05
Especie	4	1.42 ⁻⁹	3.55 ⁻¹⁰	14.39	0.0001
Suelo	2	1.14 ⁻⁹	5.72 ⁻¹⁰	23.19	0.0001
PP	2	1.07 ⁻⁸	5.38 ⁻⁹	218.31	0.0001
Esp-suelo	8	1.84 ⁻⁹	2.30 ⁻¹⁰	9.34	0.0001
Esp-PP	8	4.72 ⁻¹⁰	4.91 ⁻¹¹	2.39	0.0170
Suelo-PP	4	9.86 ⁻¹⁰	2.46 ⁻¹⁰	9.99	0.0001
Esp-Suelo-PP	16	4.90 ⁻⁹	3.06 ⁻¹⁰	12.41	0.0001
Error	225	5.55 ⁻⁹	2.46 ⁻¹¹		
Total	269	2.71 ⁻⁸			

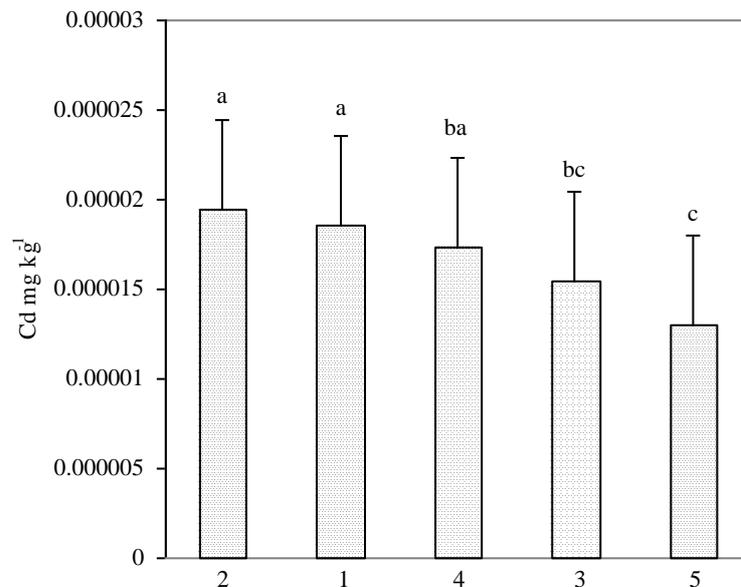


Figura 14. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para contenido de Cd en plantas de cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea*.

5.3.5. Contenido de Ni en plantas de cinco leguminosas creciendo en tres sustratos (A=20, B=50 y C=100m) bajo condiciones de invernadero.

El análisis de varianza muestra que para el contenido de Ni, existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (cuadro 13, figura 15), Así como en los factores probados: Especie, suelo, parte de la planta (raíz, tallo y hojas) al igual que en las interacciones en especie-suelo, especie-parte de la planta, suelo-parte de la planta y especie-suelo-parte de la planta. Se observa claramente como *L. leucocephala* y *L. leptophyllus* obtuvieron el mayor contenido de Ni y la especie con menos contenido fue *C. ternatea*.

Cuadro 13. Análisis de varianza para contenido de Ni en cinco especies de leguminosas (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*).

FV	GL	SC	CM	F	p<0.05
Especie	4	2.09^{-7}	5.24^{-8}	95.37	0.0001
Suelo	2	2.74^{-8}	1.37^{-8}	24.97	0.0001
PP	2	1.97^{-7}	9.89^{-8}	180.10	0.0001
Esp-suelo	8	8.79^{-8}	1.09^{-8}	20.00	0.0001
Esp-PP	8	1.49^{-7}	1.86^{-8}	33.91	0.0001
Suelo-PP	4	3.89^{-8}	9.72^{-9}	17.7	0.0001
Esp-Suelo-PP	16	1.37^{-7}	8.59^{-9}	15.64	0.0001
Error	225	1.23^{-7}	5.49^{-10}		
Total	269	9.72^{-7}			

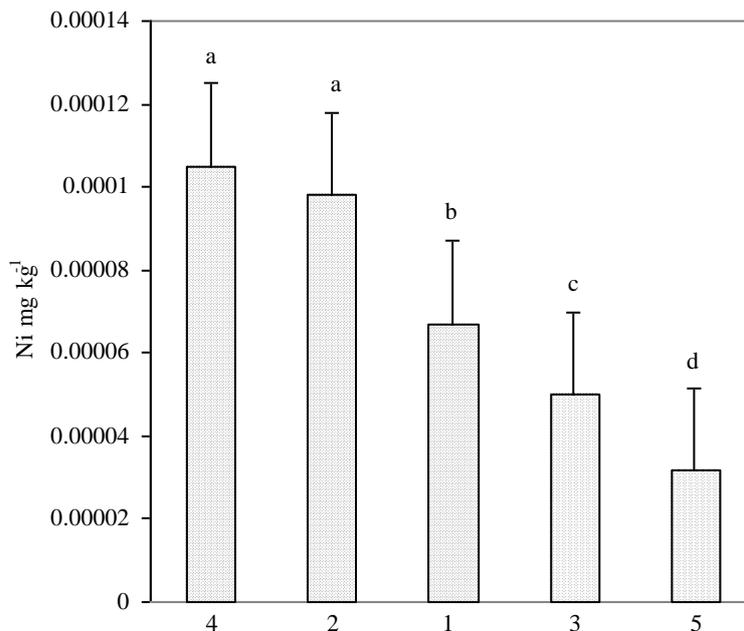


Figura 15. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para contenido de Ni en plantas de cinco especies de leguminosas: 1=*L. versicolor*, 2=*L. leptophyllus*, 3=*L. montanus*, 4=*L. leucocephala*, 5=*C. Ternatea*.

Al realizar la prueba de tukey ($\alpha=0.05$) se encontró que para Cu, Zn, Pb, Cd y Ni la parte de la planta que mayor concentración obtuvo fue la raíz seguida del tallo para todos los metales con excepción del Zn (cuadro 14).

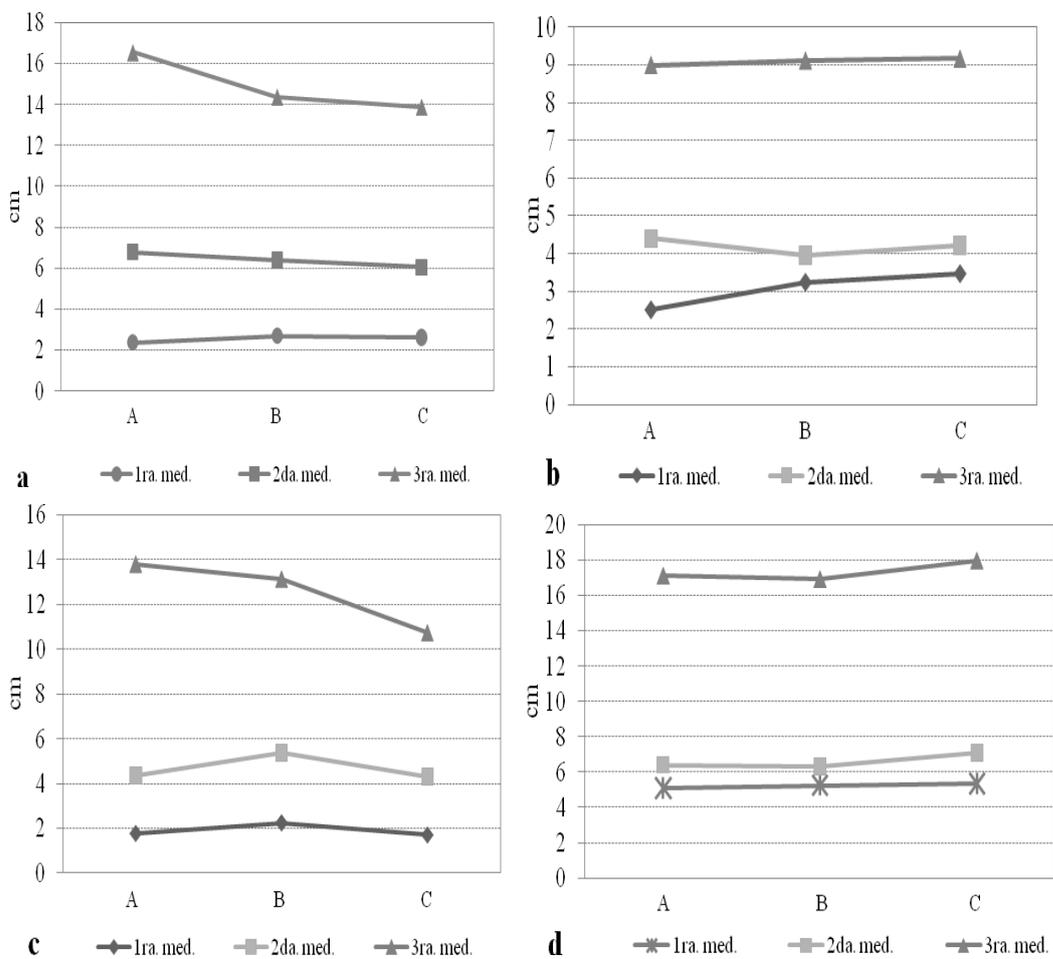
Cuadro 14. Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para la fitoextracción de cinco metales en diferentes partes de plantas de cinco especies de leguminosas.

Parte de la planta	Metales				
	Cu	Zn	Pb	Cd	Ni
1	0.00008311a	0.00008110a	0.00013655a	0.00002441a	0.00001041a
2	0.00005056b	0.00005063c	0.00007875b	0.00001697b	0.00006890b
3	0.00003725c	0.00005921b	0.00005724c	0.00000893c	0.00003782c

Parte de la planta (1=raíz, 2=tallo, 3=hoja), especies (*L. versicolor*, *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. leucocephala*, *C. Ternatea*). Letras diferentes en una columna indican efectos significativos de los sustratos (Tukey $\alpha=0.05$).

5.4. Incremento en altura en plantas de *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. versicolor*, *L. leucocephala* y *C. ternatea* en tres sustratos con diferentes niveles de contaminación (A=20, B=50, C=100m) bajo condiciones de invernadero.

El desarrollo de las plantas se evalúa de distintas formas, sin embargo, la mejor manera o al menos una de las mejores es la altura de éstas. Esta característica indica si las condiciones en las que se encuentran creciendo son las adecuadas, en este sentido al determinar esta variable en las cinco especies estudiadas se encontró que las especies que mejor crecieron en los sustratos (A=20 y C=100m) fueron *L. leucocephala* y *C. ternatea*, (figura 16).



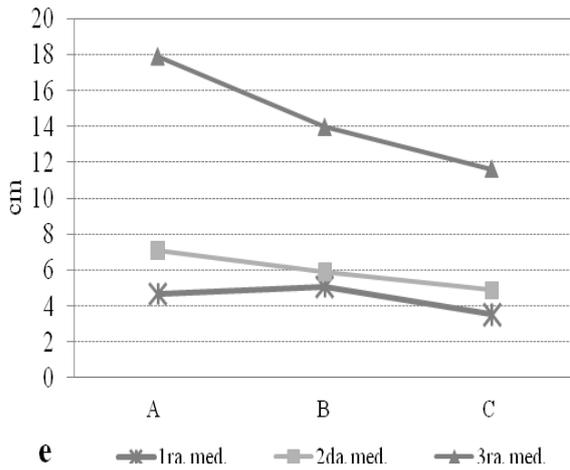
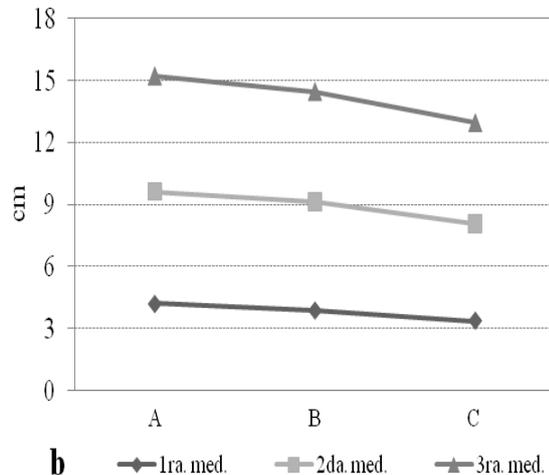
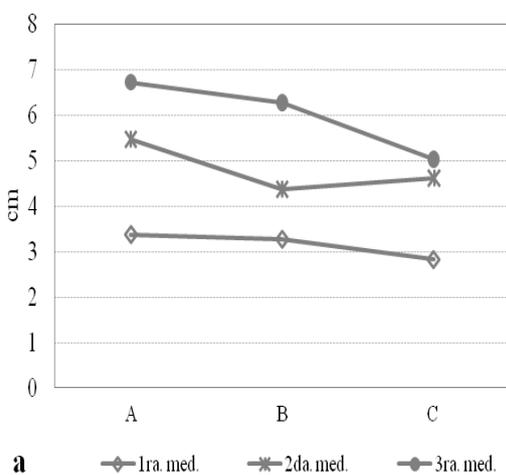


Figura 16. Incremento en altura en cinco especies (a) *L. leptophyllus*, (b) *L. montanus*, (c) *L. versicolor*, (d) *L. leucocephala* y (e) *C. ternatea*, creciendo en tres niveles de contaminación (A=20, B=50, C=100m).

5.5. Incremento en longitud de raíces en plantas de *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. versicolor*, *L. leucocephala* y *C. ternatea* en tres sustratos con diferentes niveles de contaminación bajo condiciones de invernadero.

La raíz es una de las estructuras mas importantes de las plantas con múltiples funciones de vital importancia para la misma, entre estas funciones destacan: el anclaje absorción de agua y nutrientes, entre otras. Al evaluar esta variable se encontró que la raíz de *L. leucocephala* fue la que mejor se desarrolló en el sustrato C (100m), mientras que las raíces de *L. leptophyllus* fue la menos desarrollada. Estas características de raíz pueden tener un efecto importante en la mayor sobrevivencia de estas especies al momento de crecer en campo (Pastor, 1999) (figura 17).



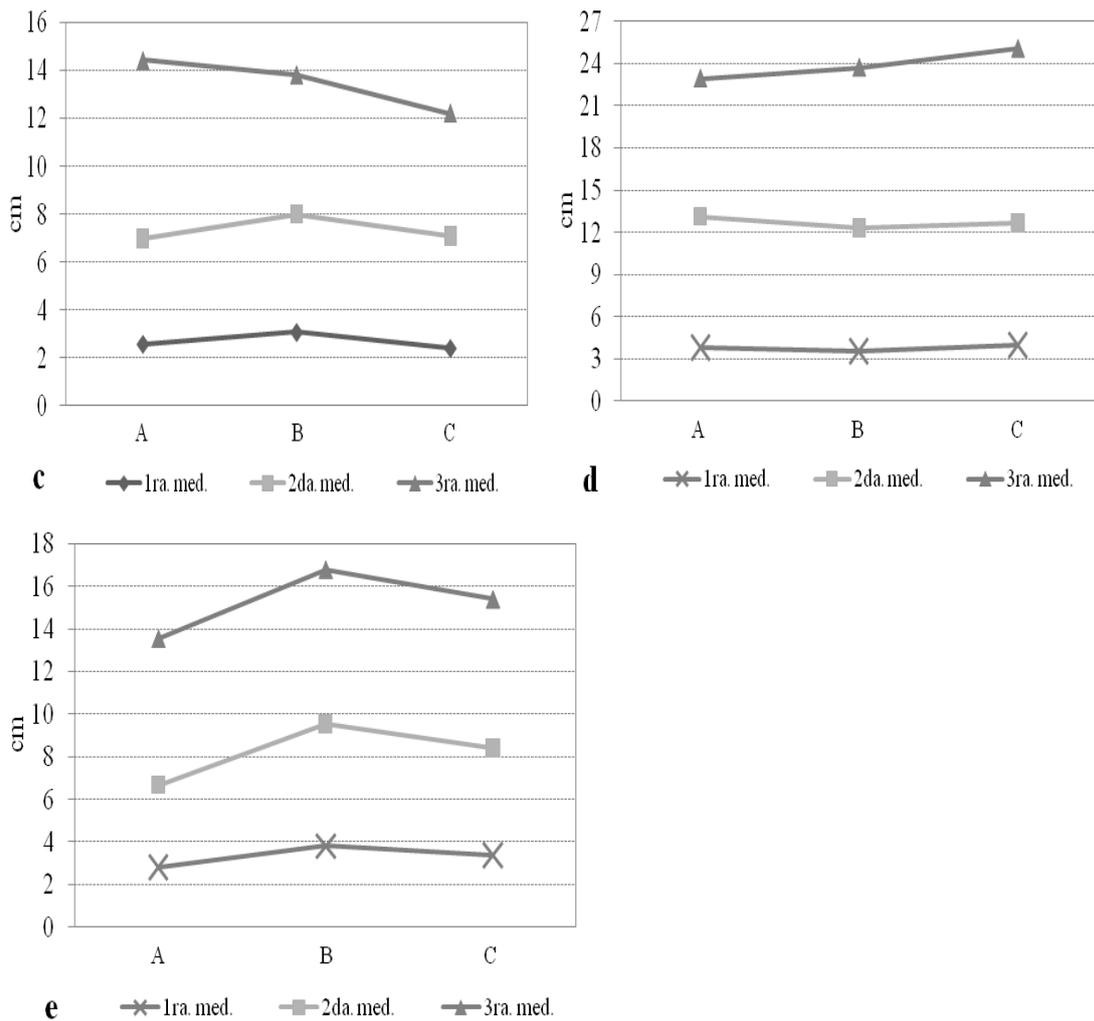


Figura 17. Longitud de raíces en (a) *L. leptophyllus*, (b) *L. montanus*, (c) *L. versicolor*, (d) *L. leucocephala*, y (e) *C. ternatea* creciendo en tres niveles de contaminación (A=20, B=50, C=100m).

en diferentes sustratos.

5.6. Peso fresco de plantas de *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. versicolor*, *L. leucocephala* y *C. ternatea* en tres sustratos con diferentes niveles de contaminación bajo condiciones de invernadero.

En base a la importancia del rendimiento de biomasa total de las plantas evaluadas se encontró que el mayor rendimiento lo obtuvo *C. ternatea* en el sustrato A (20 m) y la que presentó el rendimiento mas bajo fue *L. versicolor* en el sustrato C (100m). Estas tendencias parecen indicar que el peso fresco puede atribuirse a condiciones nutricionales inadecuadas y al crecimiento mismo de las plantas (Mendoza y Ramírez, 2001) (figura 18).

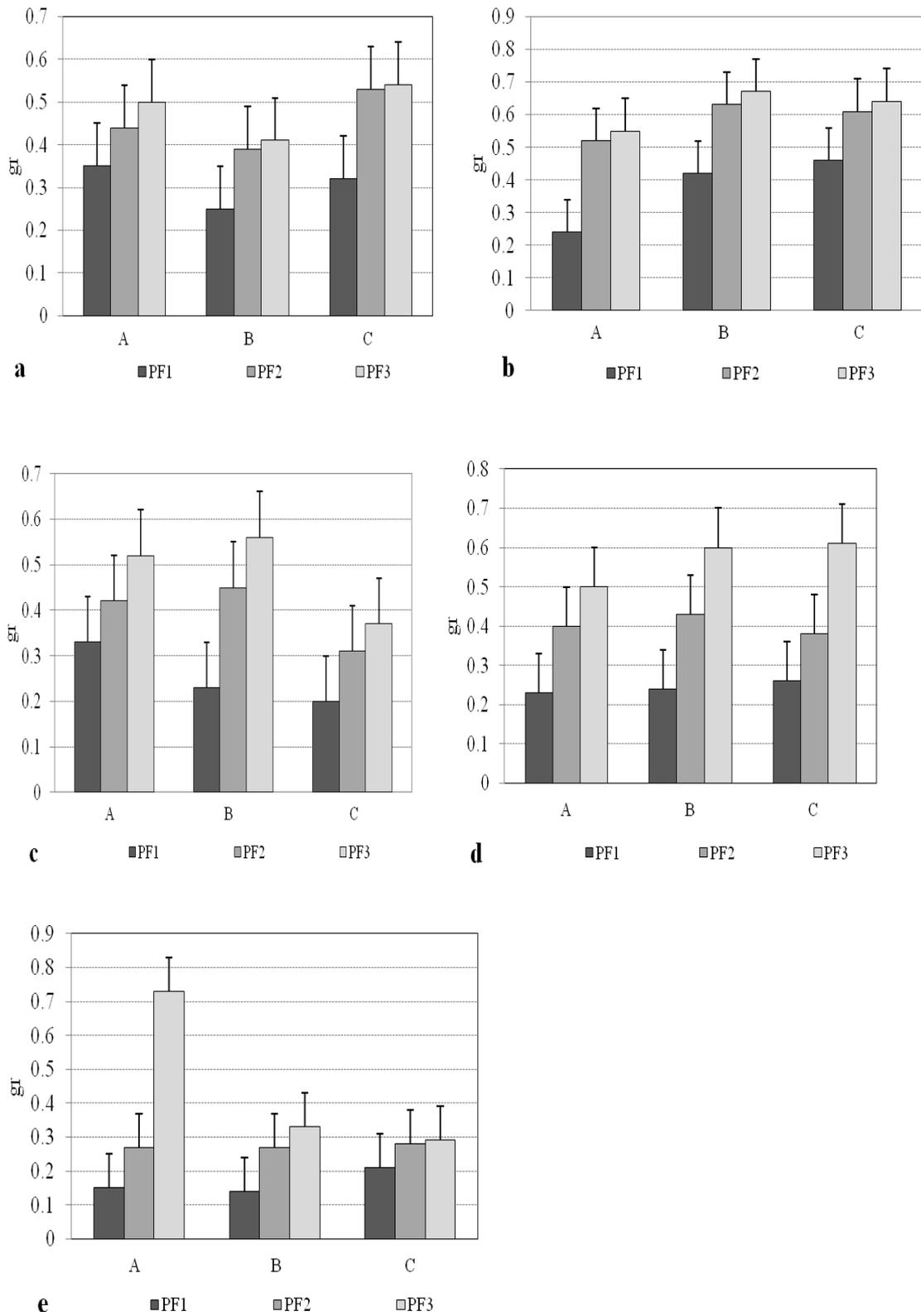
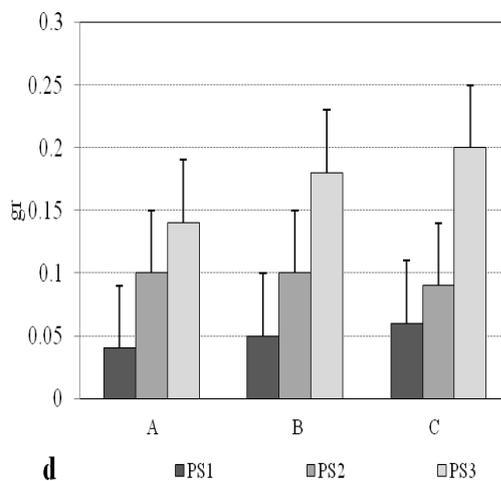
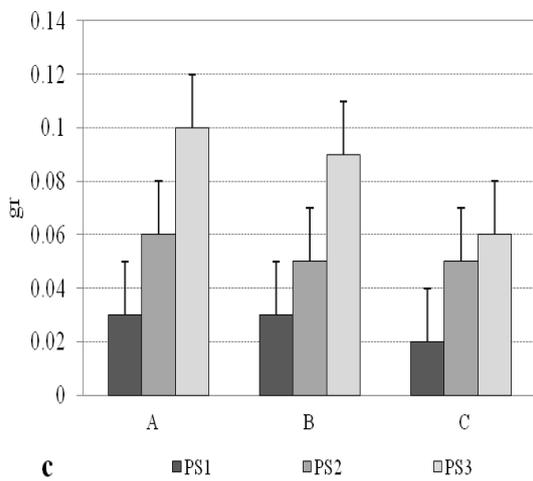
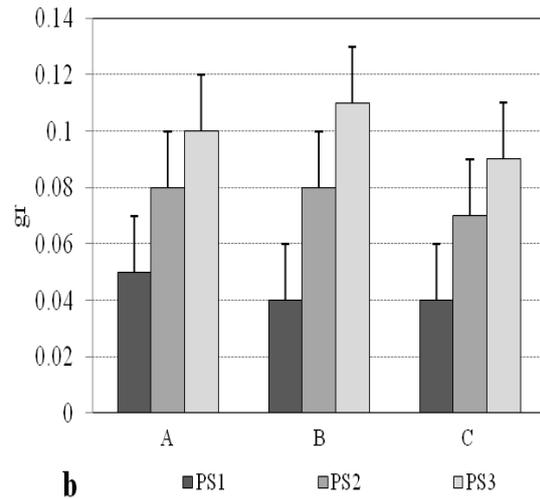
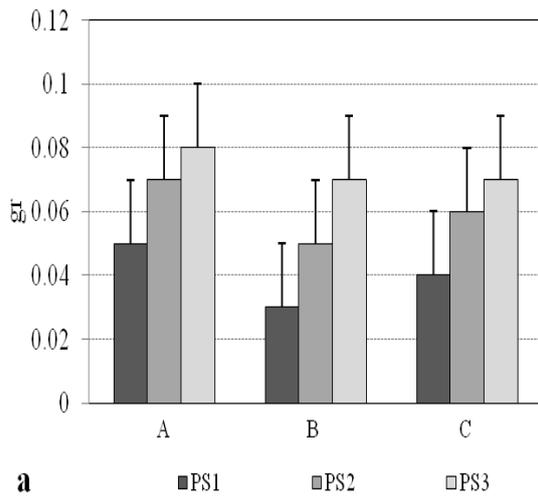
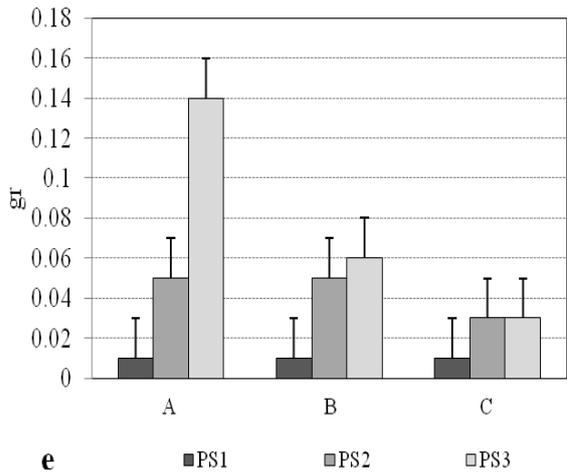


Figura 18. Peso fresco en cinco especies (a) *L. leptophyllus*, (b) *L. montanus*, (c) *L. versicolor*, (d) *L. leucocephala* y (e) *C. ternatea* creciendo en tres niveles de contaminación (A=20, B=50, C=100m).

5.7. Peso seco de plantas de *L. leptophyllus*, *L. montanus*, *L. versicolor*, *L. leucocephala* y *C. ternatea* en tres sustratos con diferentes niveles de contaminación bajo condiciones de invernadero.

Al evaluar el peso seco de biomasa total se observó que el mayor rendimiento lo obtuvo *L. leucocephala* en el sustrato C (100m) y la que menor peso de biomasa presentó fue *C. ternatea* en el sustrato C (100m), las diferencias entre el peso fresco y el peso seco de la planta hace suponer que es la diferencia en el peso del agua contenida en las estructuras de las plantas (Grassi *et al.*, 2001) (figura 19).





e ■ PS1 ■ PS2 □ PS3

Figura 19. Peso seco en (a) *L. leptophyllus*, (b) *L. montanus*, (c) *L. versicolor*, (d) *L. leucocephala* y (e) *C. ternatea* creciendo en tres niveles de contaminación (A=20, B=50, C=100m).

VI DISCUSION

El proceso de escarificación consiste en el ablandamiento, a través de métodos diversos, de las capas más externas (episperma) de las semillas sexuales. Este proceso se puede lograr empleando diferentes métodos, tales como la acción mecánica (Alexander y Sánchez, 2002). En este caso las especies de *Lupinus leptophyllus*, *Lupinus montanus*, *Lupinus versicolor*, *Leucaena leucocephala* y *Clitoria ternatea* respondieron favorablemente a este tratamiento obteniendo el 100% de germinación en todos los sustratos. Tendencias similares fueron reportadas por Alderete-Chávez (2008), para *L. leptophyllus*, *L. montanus* y *L. versicolor* quien señala que el tratamiento de escarificación mecánica es adecuado para incrementar la germinación en semillas de estas tres especies.

No obstante estos resultados difieren de lo que reportan Razz y Clavero (2003), quienes al evaluar el efecto de diferentes métodos de escarificación sobre el porcentaje de germinación de *Pithecellobium*, encontraron que al aplicar escarificación mecánica se obtuvo el menor % de germinación. Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos (2006) en el trabajo que realizaron en semillas de *L. leucocephala* señalan que la germinación empezó al cuarto día, lo que difiere de los resultados encontrados en este trabajo, en el que la mayoría de las especies comenzaron a germinar a los dos días de haberse sembrado en todos los tratamientos.

También existe el método de escarificación química, utilizando en la mayoría de los casos ácido sulfúrico concentrado (Alexander y Sánchez, 2002). Con este método, en el presente trabajo todas las especies estudiadas alcanzaron porcentajes de germinación superiores al 50 %, mientras que el tratamiento testigo para todas las especies siempre fue menor al 35 % de germinación, por lo que el tratamiento de escarificación química favorece la germinación en todos los casos y para todas las especies estudiadas. Resultados con esta tendencia han sido reportados por diversos autores. Pietrosemoli y Mendiri (1997) aplicaron tratamientos de escarificación química en semillas de *C. ternatea* incrementando los porcentajes de germinación.

Un estudio similar lo reporta Faria *et al.* (1996) con semillas de *C. ternatea*. Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo (2005) reportan mayores porcentajes de germinación en *L. montanus* en escarificación química con temperaturas de 15 a 20 °C con escarificación

química (ácido sulfúrico) durante 15 min tanto con luz (100% de germinación) como sin luz (98% de germinación); McKay *et al.* (2001) con semillas de *L. arboreus* bajo este tratamiento de escarificación, al igual que en semillas de *L. sulphureus* reportadas por Kaye y Kuykendall (2001) que obtuvieron una diferencia importante en la germinación con un 95% bajo escarificación mecánica en una población en 55% de germinación en otra población con el mismo tipo de escarificación. Estudios similares los reporta Alderete-Chávez *et al.* (2010) con semillas de *L. leptophyllus* y Alderete-Chávez (2008) con semillas *L. leptophyllus*, *L. montanus* y *L. versicolor*. Alvarado-Sosa *et al.* (2007) con semillas de *L. elegans* y Davis *et al.* (1991) con semillas de *L. texensis*. Razz y Clavero (1996) obtuvieron los mejores resultados con este mismo tratamiento para *L. leucocephala*.

Al aplicar el tratamiento de escarificación a base de calor en diferentes tiempos de exposición las especies que respondieron favorablemente a este tratamiento fueron *L. montanus* con 25% de germinación a 110°C por dos y cinco minutos de exposición, *L. leucocephala* con 60% de germinación a 110°C por cinco minutos de exposición, *C. ternatea* con 10 % de germinación a 110°C por dos y cinco minutos de exposición, al igual que 140°C por dos minutos de exposición, mientras que el tratamiento testigo fue inferior para las tres especies, a diferencia de *L. leptophyllus* y *L. versicolor* que no respondieron a este tratamiento de escarificación en donde los testigos fueron superiores en germinación que el tratamiento con calor. De acuerdo con estos resultados, se concluye que este tratamiento no es adecuado para inducir la germinación en todas las especies evaluadas, con excepción de *L. leucocephala* que respondió favorablemente con más del 50 % de germinación en comparación de las otras especies.

En estudios realizados por Alderete-Chávez, 2008, el autor reporta que el tratamiento de escarificación a base de calor no es adecuado para *L. leptophyllus*, *L. montanus* y *L. versicolor*, sin embargo estos resultados no coinciden con lo que se encontró en este estudio donde *L. montanus* sí respondió a este tratamiento, mientras que las tendencias en *L. leptophyllus* y *L. versicolor* sí coinciden con lo encontrado por Alderete Chavez. (2008), lo mismo que el caso de *L. leptophyllus* Alderete-Chávez *et al.* (2010).

Estas tendencias pueden deberse a que los tratamientos con calor están asociados a la exposición al fuego que en condiciones naturales se presentan a causa de los incendios forestales, uno de los causales de la alteración de los ecosistemas, ya que es bien sabido

que después del fuego el suelo forestal se cubre de cenizas que puede afectar tanto la germinación como el desarrollo de las plántulas, según lo señalan diversos autores entre los que destacan Reyes y Casal (2004), Rodríguez y Fulé (2003).

La mayoría de los metales son ampliamente utilizados en las diversas ramas de la industria, incluidas el refinado del petróleo. Se encuentran como depósitos generados por la descomposición gradual, durante millones de años, de plantas y animales, así como otros materiales biológicos (Graterol, 2006). Las principales fuentes de contaminación por hidrocarburos fósiles en los suelos, son las deficiencias en el mantenimiento de fosas de pozos petroleros, las descargas de instalaciones de procesamiento y petroquímica, la ruptura de oleoductos y en menor medida desechos municipales y los depósitos vía atmosférica (García-Cuellar *et al.*, 2004).

El comportamiento de las especies estudiadas en cuanto a la acumulación de metales pesados en los suelos contaminados por diferentes aspectos de la extracción petrolera puede deberse a que las plantas al exudar ácidos orgánicos por la raíz acidifican la rizosfera (Li y Masumoto, 2002) de tal forma que puede descomponer los compuestos orgánicos en los cuales están acumulados los metales pesados en los suelos. En ese sentido las plantas con mayor contenido de Cu en sus estructuras fue *L. leucocephala* con 0.00038067 mg y la especie con menor contenido fue *L. versicolor* con 0.00001676 mg.

En el caso del Zn las especies con mayor contenido fueron *L. leucocephala* con 0.00027596 mg, mientras que la especie que tuvo menor contenido fue *C. ternatea* con 0.00009998 mg. Para el Pb la especie con mayor contenido fue *L. leucocephala* con 0.00053308 mg y *L. versicolor* fue la especie con menor contenido con 0.00011363 mg. En Cd el mayor contenido fue en la especie de *L. leptophyllus* con 0.00005827 mg donde *C. ternatea* fue la que menos contenido tuvo con 0.00003909 mg y finalmente para el Ni la especie que mayor contenido obtuvo fue *C. leucocephala* con 0.00031465 mg, siendo *C. ternatea* la que menor contenido tuvo con 0.00009498 mg.

Para el caso de la concentración de Cu *L. leucocephala* fue superior con 4.16 mg Kg⁻¹ y con la menor concentración fue *L. versicolor* con 0.26 mg Kg⁻¹. En el caso del Zn la especie con mayor concentración fue *L. versicolor* con un rango de 3.97-5.07 mg Kg⁻¹ y *C. ternatea* con rangos de 1.5-5.99 mg Kg⁻¹, mientras que la especie que tuvo menos

concentración fue *L. leptophyllus* con un rango de 1.72-2.69 mg Kg⁻¹. Para el Pb la especie con más concentración fue *L. leptophyllus* con un rango de 5.07-6.36 mg Kg⁻¹ seguida de *L. leucocephala* y *C. Ternatea* con rangos de 4.63-5.07 mg Kg⁻¹ y 3.31-4.41 mg Kg⁻¹. En Cd la mayor concentración ocurrió en la especie *L. leptophyllus* en un rango de 0.89-1.72 mg Kg⁻¹ y finalmente para el Ni la especie que mayor concentración obtuvo fue *L. leptophyllus* con un rango de 4.51-6.35 mg Kg⁻¹. Estas tendencias coinciden para Pb, Cd y Ni no así para Cu y Zn en el experimento realizado con *Lupinus* sp donde los valores para estos metales fueron superiores con rangos de 14.3 a 25.02 mg Kg⁻¹ y 55.08 a 80.04 mg Kg⁻¹ para Cu y Zn respectivamente, esto puede deberse a que esta especie es mas agresiva y crece en forma natural en sitios con mayor índice de degradación (Anexo IV).

Porebska y Ostrowska (1999), mencionan que existen plantas que toleran concentraciones de metales en sus estructuras en rangos de 51 a 100 mg kg⁻¹ de Cu y hasta de 1000 mg kg⁻¹ de Zn, sin embargo para Pb, Cd y Ni los resultados encontrados en este trabajo están dentro de los rangos reportados por estos autores. Tassi *et al.* (2003), menciona que *L. albus* puede fitoextraer Pb en rangos de 28.4 a 625 mg kg⁻¹, cantidades muy superiores a las encontradas en este trabajo. Ximénez-Embún *et al.* (2001) reporta valores de 1.8 mg kg⁻¹ y 5.0 mg kg⁻¹ para Cd y Pb respectivamente en *L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus* y *L. hispanicus* encontrándose dentro de los rangos reportados en este estudio. Brunetti *et al.* (2009) señala rangos para Cu de 8.7 a 27.8 mg kg⁻¹, para Zn de 42.06 a 123.06 mg kg⁻¹, Pb 3.36 a 118.89 mg kg⁻¹, Cd 0.14 a 0.42 mg kg⁻¹, Ni de 0.63 a 3.10 mg kg⁻¹ en plantas de seis especies (*Carduus pycnocephalus* L., *Dasyphyrum villosum* Borbas, *Ferula communis* L., *Silybum marianum* Gaertner, *Sinapis arvensis* L. y *Stipa austroitalica* Martinowsky), los datos de estos autores para Cd y Ni presentan valores mas bajos que los encontrados en este estudio, en tanto que para Cu, Zn y Pb estos valores son mayores de los rangos reportados en este trabajo.

La capacidad de las especies vegetales para extraer metales pesados en cada uno de los suelos en estudio fue que a mayor distancia de la fuente de contaminación mayor acumulación de metales pesados por la planta y puede deberse a diversos factores como la composición química de los suelos, a la presencia de formas solubles y activas de los metales (Keller et al, 1992) donde cada elemento tiene un comportamiento diferente, el que depende de la composición de los materiales parentales del suelo, de la exposición del mismo a materiales contaminantes como por ejemplo las tuberías utilizadas para la

extracción del petróleo que contienen Zn, Pb y Cu que se depositan en esa área, al igual que el pH que afecta a los procesos de ingreso del metal a las raíces de las plantas (E.C.2003) a pH bajo se produce desorción de los metales pesados, aumentando su concentración en la solución del suelo y su biodisponibilidad, los resultados encontrados en este estudio presentan pH ácido por lo cual los elementos estuvieron disponibles en el siguiente orden Zn, Cu, Pb, Ni y Cd para las plantas en estudio.

L. leucocephala fue la especie de clima tropical que mejor resultado presentó para acumular Cu, Zn, Pb y Ni, sin embargo para el trópico podría eventualmente ser utilizada para la fitorremediación, de acuerdo a los resultados encontrados en este estudio, mientras que *L. leptophyllus*, de clima templado aparentemente es la más promisoría para fitoextraer Cd y la parte de la planta donde más se acumularon estos metales fue en la raíz, seguida del tallo. Resultados similares fueron encontrados por Al-Farraj y Al-Wabel (2007) en *Pergularia tormentosa*, donde indican que esta especie acumula altas concentraciones de Cd, Cu, Zn y Pb en sus tejidos creciendo en condiciones naturales en suelos contaminados (Alonso *et al.*, 2002). Chaney *et al.* (2004), reportan concentraciones altas de Pb, Cd y Zn en hojas de plantas cultivadas. Resultados parecidos a los de Chaney *et al.* (2004) los reportan McGrath *et al.* (2006) en la especie de *Thlaspi caerulescens* que acumula Zn en las hojas y en el tallo.

Martínez *et al.* (2006) reportan que el género *Thlaspi* y la especie *Amaranthus retroflexus* tiene la capacidad de acumular Pb en sus raíces (Grill *et al.*, 1985). Ehsan *et al.* (2007, 2009), reportan que *Lupinus uncinatus* acumula Cd y Zn en su estructura. Resultados similares son reportados por Chaney *et al.* (2004) en raíces. Estos autores mencionan que los metales pueden ser transportados al resto de la planta dependiendo del origen y edad de la planta. Ghaderian *et al.* (2007) reportan que *Alyssum bracteatum* tiene la capacidad de acumular Ni en sus diferentes estructuras. Li *et al.* (2003) también reportan que al seleccionar dos especies de *Alyssum* éstas acumularon Ni en las hojas, absorbiéndolo rápidamente en las raíces. Los autores reportaron que el Ni se puede acumular en altas concentraciones en diferentes partes de la planta.

Para el peso fresco, la especie que mostró mejores resultados fue *Clitoria Ternatea*, mientras que para peso seco, la especie que mostró mejores resultados fue *L. leucocephala*. Estas tendencias parecen indicar que el sustrato juega un papel fundamental para el buen

crecimiento de las plantas en general (Mendoza y Ramírez, 2001), y al crecer en suelos contaminados, todas las especies evaluadas inhibieron su crecimiento y rendimiento en biomasa aérea y radicular. En este caso las de mayor respuesta fueron *L. leucocephala* y *C. ternatea*, seguidas de las tres especies de *Lupinus*, siendo *L. leucocephala* la que obtuvo el mayor incremento en cuanto a longitud de raíces.

Las plantas aparentemente presentan un comportamiento irregular, y ocasionalmente especies como *L. leucocephala* y *C. Ternatea* aceleran su proceso de crecimiento e incremento en altura y sistema radicular por encima de las plantas que crecen en suelos no contaminados, sin embargo todas las especies de *Lupinus* inhibieron su crecimiento en altura, siendo *L. montanus* la que menos creció, pero a la vez la que mas longitud de raíces tuvo por sobre todas las especies estudiadas.

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Conclusiones

Las semillas de *L. leucocephala* estudiada en este trabajo, pueden germinar en suelos con diferentes grados de contaminación, si se les aplica el tratamiento mecánico, método de escarificación que mejores resultados presentó, incrementando sustancialmente los porcentajes de germinación para esta especie. En tanto que el sustrato donde mejor germinaron las semillas, fue el más cercano a la fuente de contaminación, es decir el suelo más contaminado, este resultado podría deberse a una respuesta de las semillas al estrés causado por el contaminante. Sin embargo a pesar de germinar en suelos contaminados, los resultados demuestran que las semillas de las cinco especies de plantas pueden ser afectadas por la presencia de calor, que en condiciones naturales es provocado por el fuego, que se presenta en épocas de calor y sequía a través de los incendios forestales.

Las tendencias encontradas en este estudio, permiten señalar que todas las especies estudiadas presentan potencial para ser utilizadas como fitorremediadoras en suelos contaminados por metales pesados, siendo *L. leucocephala* la especie de clima tropical que mejor resultado presentó para fitoextraer Cu, Zn, Pb y Ni, sin embargo para el trópico podría eventualmente ser utilizada para la fitorremediación, de acuerdo a los resultados encontrados en este estudio, mientras que *L. leptophyllus*, de clima templado aparentemente es la más promisoría para fitoextraer Cd.

La parte de la planta donde más se acumularon los metales fue en la raíz, seguida del tallo y la mayor extracción lo realizaron en la distancia mas lejos de la fuente de contaminación, cabe mencionar que el área de estudio es un área parcialmente inundable en épocas de lluvias por lo que los metales acumulados en el suelo pueden lixiviarse lentamente en algunas partes del suelo, ocasionando así el arrastre los metales con mayor disponibilidad hacia diferentes partes del suelo en donde algunos metales pueden acumularse más que otros.

Aunque es importante señalar que la limpieza de los suelos contaminados por metales pesados a través de los derrames por hidrocarburos, utilizando plantas fitorremediadoras como las estudiadas en el presente trabajo, tiene que darse en series subsecuentes que

puede llevarse decenas de años, por lo que no es una tarea fácil, sin embargo es necesario realizarla en pro de la conservación del ambiente.

2. Recomendaciones

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo es importante que se continúen con estos estudios para conocer más a fondo el comportamiento de estas y de otras especies de plantas, principalmente en aspectos relacionados con la germinación de las semillas, explorando nuevos tratamientos de escarificación, ya que como es conocido el aspecto germinativo y de adaptación de las plantas en ambientes adversos como es el caso que nos ocupa, representa un reto que es necesario afrontar en los procesos de recuperación de áreas contaminadas por metales pesados derivados de las diferentes actividades del sector industrial incluyendo la de extracción de materia prima y la de transformación.

Una vez que estas plantas estén adaptadas se tendría que continuar con el proceso exploratorio para encontrar aquellas con mayor potencial fitorremediador en suelos contaminados, principalmente para disminuir las cantidades de metales pesados acumulados en ellos. Es importante considerar que para usar las especies estudiadas en este trabajo es conveniente extraerlas en su totalidad, ya que la parte donde más metales acumularon fue en la raíz, para posteriormente eliminarlas por los métodos que mejor convengan como podría ser la incineración.

VIII LITERATURA CITADA

- Adams, R. H., J. Zavala-Cruz, y F. Morales-García. 2008.** Concentración residual de hidrocarburos en suelo del trópico. ii: afectación a la fertilidad y su recuperación. *INCI*, 33(7): 483-489.
- Acosta-Percástegui, J. and D. A. Rodríguez T. 2005.** Factors affecting germination and pregerminative treatments of *Lupinus montanus* seeds. *Interciencia* 30: 576-579.
- AL-Farraaj A. S. and M. I. Al-Wabel, 2007.** Heavy Metals Accumulation of Some Plant Species Grown on Mining Area at Mahad AD'Dahab, Saudi Arabia. *Journal of Applied Sciences*, 7: 1170-1175.
- Aitchison, E., S. Kelley, P. Alvarez y J. Schnoor. 2000.** Phytoremediation of 1,4-dioxane by hybrid poplar trees. *Water Environ. Res.* 72, 313-321.
- Alderete-Chavez, A; D. A. Rodríguez-Trejo, V. Espinosa-Hernandez, E. Ojeda-Trejo and N. De la Cruz-Landero. 2010.** Effects of Different Scarification Treatments on the Germination of *Lupinus leptophyllus* Seeds. *International Journal of Botany* 6 (1) 64-68.
- Alderete-Chávez, A., V. E. Hernández, E. O. Trejo, M. Ehsan, J. P. Moreno, V. M. Cetina, D. A. Rodríguez and N. De la Cruz-Landero. 2008.** Natural distribution and principal characteristics of *Lupinus* in the oriental face of Tlalóc Mountain in Sierra Nevada, México. *Journal of Biological Sciences* 8(3) 604-609.
- Alderete-Chávez, A. 2008.** Distribución Altitudinal, Tratamientos Pregerminativos e influencia de *Lupinus* ssp (Fabaceae: Papilionoideae) en la fertilidad de suelos forestales. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados Campus Montecillos 120 p.
- Alexander, J. y G. Sánchez. 2002.** Efecto del tratamiento con agua caliente e imbibición sobre la germinación de semillas de *L. leucocephala*. *Revista Científica* 12(2) 581-583,
- Alvarado-Sosa, P., A. Blanco-Garcia and R. Lindig-Cisneros. 2007.** Test of alternative nursery Propagation conditions for *Lupinus elegans* kunth plants and effects on field survival. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 201-204.
- Alonso, E., M. Callejón, J. C. Jiménez, M. Ternero, 2002.** Heavy metal extractable forms in sludge from wastewater treatment plants. *Chemosphere*, 47: 765-775
- Anderson, T. and Coats J. 1995.** Screening rhizosphere soil samples for the ability to mineralize elevated concentrations of atrazine and metolachlor. *J. Environ. Sci. Heal.* 30: 473-484.
- Angelova, V., R. Ivanova and K. Ivanov. 2005.** *Geophysical Research Abstracts*, Vol. 7, 03931, SRef-ID: 1607-7962/gra/EGU05-A-03931.
- Aprill, W. and R. C. Sims. 1990.** Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere*. 20: 253-265.

AL-Farraj, A. S. and M. I. Al-Wabel. 2007. Heavy Metals Accumulation of Some Plant Species Grown on Mining Area at Mahad AD'Dahab, Saudi Arabia. *Journal of Applied Sciences*. Vol. 7 (8) pp.1170-1175.

ATSDR, 2003. Agency for toxic substances and disease registry, 2003. Niquel (nickel).

Barceló, J. y Ch. Poschenrieder. 1992. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales. *Suelo y planta* 2: 345-361.

Batey, T., M. S. Chessner, I. R. Willett. 1974. Sulphuric perchloric acid digestion of plant material for nitrogen determination. *Anal. Chem. Acta*. 69: 484-487.

Betancourt, F., M. T. Clavero y R. Razz. 2002. Características nutritivas del ensilaje de *leucaena leucocephala* con diferentes aditivos. *Revista Científica* 12 (2): 502-504.

Barro, C. y A. Ribeiro. 1983. The study of *Clitoria ternatea* L. hay as a forage alternative in tropical countries. Evolution of the chemical composition at four different growth stages. *J Sci Food Agric* 34: 780-782.

Bernal, M. P., R. Clemente, S. Vazquez y D. J. Walker. 2007. Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar *Ecosistemas* 16 (2): 67-76.

Bock, S. Y. 1996. Efectos de la extracción de hidrocarburos sobre la producción agrícola en Cunduacán, Tabasco. Tesis de Maestría. Colegio de postgraduados. Campus Puebla. Montecillo, Edo. de México. 142.

Borges, D. V. C. 2002. Tropical Forage Plants: Development and Use. *Crop Science* 42:655.

Botello, A. V., A. Toledo, G. G. Días y S. Villanueva. 1992. Ecología, Recursos Costeros y Contaminación en el Golfo de México en *Revista Ciencia y Desarrollo*. Enero/Febrero. 13 (102) CONACYT México.

Boon, D. Y. and P. N. Soltanpour. 1992. Lead, cadmium and zinc contamination of Aspen Garden soils and vegetation. *Journal Environmental Quality* 21: 82-86. U.S.A.

Brown, P. H., R. M. Welch and E. E. Cary. 1988. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiol*. 85: 801-803.

Brunetti, P., G. Soler-Rovira, K. Farrag and N. Senesi. 2009. Tolerance and accumulation of heavy metals by wild plant species grown in contaminated soils in Apulia region, Southern Italy. *Plant Soil* 318: 285–298.

Cataldo, D. A., R. E. Wilding y T. R. Garland. 1987. Speciation of trace inorganic contaminants in plants and bioavailability to animals: an overview. In *Journal of Environmental Quality*. Vol. 16. No. 4.

Chaney, R.L., P. G. Reeves, J. A. Ryan, R. W. Simmons, R. M. Welch and J. Scott Angle, 2004. An improved understanding of soil Cd risk to humans and low cost methods

to phytoextract Cd from contaminated soils to prevent soil Cd risks. *BioMetals*, 17: 549-553.

Chaney, R. L., M. Malik, Y. M. Li, S. L. Brown, E. P. Brewer, J. S. Angle and A. J. M. Baker. 1997. Phytoremediation of soil metals. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8: 279-284.

Chen, Y. X., Q. Lin, Y. F. He and G. M. Tian. 2004. Behavior of Cu and Zn under combined pollution of 2,4-dichlorophenol in the planted soil *Plant and Soil* 261: 127-134.

Contreras, E. V. y J. R. Vivas. 1995. comportamiento del porcentaje de germinación de semillas de *leucaena leucocephala* ecotipo san cristobal porte bajo, sometidas a dos formas de almacenamiento. *Zootecnia Trop.* 13(1):105-112.

Corgié, S. C., F. Fons, T. Beguiristain and C. Leyval. 2006. Biodegradation of phenanthrene, spatial distribution of bacterial populations and dioxygenase expression in the mycorrhizosphere of *Lolium perenne* inoculated with *Glomus mosseae*. *Mycorrhiza* 16: 207-212.

Cortón, E. y A. Viale. 2006. Solucionando grandes problemas ambientales con la ayuda de pequeños amigos: Técnicas de biorremediación. *Ecosistemas* 3: 147-156.

Cossio, C., E. Martinoia and C. Keller. 2004. Hyperaccumulation of Cadmium and Zinc in *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri* at the Leaf Cellular Level *Plant Physiol.* 134(2): 716-725.

Davis, T. D., S. W. George, A. Upadhaya and J. M. Parsons. 1991. Improvement of seedling emergence of *Lupinus texensis* following seed scarification treatments. *J. Environ. Hort.* 9: 17-21.

Díaz, Y J. V. y A. Escobar. 1994. Efecto de diferentes métodos de escarificación sobre la germinación en semillas de *Pachecoa venezuelensis* Burka. *Agronomía Trop.* 45(4):561-570

Dushenkov, S. 2003. Trends in phytoremediation of radionuclides, *Plant and Soil.* 249, 167 – 175.

Eshan, M., P. A. Molumeli, V. E. Hernández, A. B. Reyes, J. P. Moreno, M. S. Hernández, E. O. Trejo, D. J. Contreras, A. R. Bello and E. R. Santoyo. 2007. Contamination Time Effect on Plant Available Fractions of Cadmium and Zinc in a Mexican Clay Loam Soil. *Journal of Applied Sciences* 7: 2380-2384.

Enquist, J. B. and K. J. Niklas. 2001. Invariant scaling relations across tree-dominated communities. *Nature* 410: 655-660.

Eshan, M., K. Santamaría-Delgado, A. Vázquez-Alarcón, A. Alderete-Chávez, N. De la Cruz-Landero, D. Jean-Contreras and P. A. Molumeli. 2009. Phytostabilization of cadmium contaminated soils by *Lupinus uncinatus* Schldl. *Spanish Journal of Agricultural Research* 7(2), 390-397.

- Estévez, J., M. L. Andrade, P. Marcet y M. J. Montero. 2000.** Fijación y Movilidad de Cadmio y Zinc en tres tipos de suelos ácidos de Galicia, España. *Ciencia del Suelo* 18 (1): 28-35.
- Faria, J., L. Garcia-Aguilar y B. González. 1996.** Nota técnica. Métodos de escarificación de cuatro leguminosas forrajeras tropicales. *Revista Facultad de Agronomía (LUZ)* 13:573-579.
- Ferrera-Cerrato, R., A. Alarcón, M. R. Mendoza-López, W. Sangabriel, D. Trejo-Aguilar, J. S. Cruz-Sánchez, C. López-Ortiz and J. Delgadillo-Martínez. 2007.** Phytoremediation of a fuel oil-polluted soil with *Phaseolus coccineus* using organic or inorganic fertilization. *Agrociencia* 41: 817-826.
- Fodor, F. 2006.** Heavy metals competing with iron under conditions involving phytoremediation. *Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms*, 129–151.
- Ghaderian, M., A. Mohtadi, M. R. Rahiminejad and A. J. M. Baker, 2007.** Nickel and other metal uptake and accumulation by species of *Alyssum (Brassicaceae)* from the ultramafics of Environment Pollution, 145: 293-298.
- García-Cuéllar, J. A., F. Arreguín-Sánchez, S. H. Vázquez y D. B. Lluch-Cota. 2004.** impacto ecológico de la industria petrolera en la sonda de Campeche, México, tras tres décadas de actividad: una revisión. *INCI* .29 (6). 311-319.
- García, E. D., H. B. Wencomo, M. E. González, M. G. Medina, L. J. Cova y I. Spengler. 2008.** Evaluación de diecinueve accesiones de *Leucaena leucocephala* basada en la calidad nutritiva del forraje. *Zootecnia Trop.*, 26(1): 9-18.
- Garcia, E. J. 1997.** Consecuencias indeseables de los plaguicidas en el ambiente. *agronomía mesoamericana* 8(1): 119-135.
- Gardezi, K. A., I. D. Barceló, A. L. Bussy, V. M. Cetina, H. E. C. Solís. 2006.** Distribución de Cu en un suelo agrícola y su relación con una posible planta fitorremediadora. XV Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales 10p.
- Graham, H. P. and C. P. Vance 2003.** Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiology* 131:872-877.
- Grassi, F. M., A. Antunes, A. Alves y V. Torcinelli. 2001.** Efeito de diferentes substratos no crescimento de mudas de limonero “cravo” até o ponto enxertia. *Laranja Cordeirópolis* 22:157-166.
- Graterol, M. B. 2006.** procesos relevantes de degradación de ecosistemas en la guayana Venezolana. *Revista Digital CENIAP HOY*. 12: 1-12.
- Grill, E., E. L. Winnacker and M. N. Zenk, 1985.** Phytochelatins: The principal Heavy-metal complexing peptides of heger plants. *Science*, 230: 674-676

Guevara, E. y O. Guenni. 2004. Acumulación de biomasa y patrón de crecimiento en *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit., durante la fase de establecimiento. II. Estructura y patrón de crecimiento aéreo. *Zootecnia Tropical* 22(3):231-240.

Gutiérrez, M. C., y C. J. Zavala. 2001. Hydromorphic Pedofeatures in Hydrocarbon Polluted Tropical Soils. *Terra* 20: 101-111.

Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerant. *Journal of Experimental Botany*. Vol 53 pp 1-11.

Haq, A. U., T. E. Bates and Y. K. Soon. 1980. Comparison of extractants for plant-available zinc, cadmium, nickel and copper in contaminated soils. *Soil Science. Soc. Am. J.* Vol 44 pp 772-777.

Haque, N., J. R. Peralta-Videa, G. L. Jones, T. E. Gill and J. L. Gardea-Torresdey. 2008. Screening the phytoremediation potential of desert broom (*Baccharis sarothroides* Gray) growing on mine tailings in Arizona, USA. *Environ Pollut.*153(2): 362–368.

Harvey, A. J., M. Leontien, A. Witjes, M. Benkirane, H. Duyts and R. Wagenaar. 2007. Nutritional suitability and ecological relevance of *Arabidopsis thaliana* and *Brassica oleracea* as foodplants for the cabbage butterfly, *Pieris rapae*. *Plant ecology* 189: 117-126.

Hurtado–Luna, S. Vega, Y. Ramos y O. Álvarez. 2008. Estudio de la incidencia de plagas y enfermedades en una colección de conchita azul. (*Clitoria ternatea*) *Ciencia y Tecnología Ganadera* 2(1): 15-19.

PEMEX. <http://www.pemex.com/files/content/moodys.pdf>. 2010.

PEMEX. <http://www.eia.doe.gov/emeu/cabs/Mexico/oil.html>. 2010.

IMP. <http://www.imp.mx/petroleo/glosario/y.htm> .2010.

Iannacone, O. J. y Alvarino F. L. 2005. Efecto Ecotoxicológico de tres Metales Pesados Sobre el Crecimiento Radicular de Cuatro Plantas Vasculares. *Agricultura Técnica* v.65 n.2:198-203.

Joner, E. and C. Leyval. 2003. Rhizosphere gradients of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) dissipation in two industrial soils and the impact of arbuscular mycorrhiza. *Environ. Sci. Technol.* 37, 2371-2375.

Jones, D. L., P.G. Dennis, A. G. Owen and P.A.W. Van Hees. 2003. Organic acid behavior in soils – misconceptions and knowledge gaps. *Plant and Soil* 248: 31–41.

Jones, D. L. 1998. Organic acids in the rhizosphere-a critical review. *Plant and Soil*. Vol. 205. pp 25-44.

Kaye, T.N. and K. Kuykendall. 2001. Effects of scarification, cold stratification on germination of *Lupinus sulphureus kincaidii*. *Seed Sci. Technol* 29: 663-668.

- Kennedy, C. D. and F.A.N. Gonsalves. 1989.** The action of divalent Zn, Cd, Hg, Cu and Pb ions on the ATPase activity of a plasma membrane fraction isolated from roots of *Zea mays*. *Plant and Soil*. Vol 117 pp 167-175.
- Kidd, P. S. C., M. C. Becerra, M. L. García y C. Monterroso. 2007.** Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género *Alyssum* L. *Ecosistemas* 16 (2): 26-43.
- Kramer, U., R. D. Smith, W. W. Wenzel, I. Raskin and D. E. Salt. 1997.** The role of metal transport and tolerance in nickel hyperaccumulation by *Thlaspi goesingense* hálacsy. *Plant Physiol*. 115: 1644-1650.
- Lagunés, E. L. C., B. A. Ruiz, C. J. Zavala y G. S. Salgado. 1994.** Metales Pesados en Suelos de la Región Chontalpa, Tabasco. Séptima Reunión Científica, Forestal y Agropecuaria, Villahermosa, Tab. 126.
- Lagunes, E. L. C., J. C. G. Méndez, J. C. Zavala, D. J. L. P. 1995.** Cuantificación de metales pesados en suelos y cultivos del ejido Cumuapa, Tabasco. Memorias XXVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. 44.(falta apellido de ultimo autor).
- Larenas, P. G. y L. M. De Viana. 2005.** Germinación y supervivencia del pasto cubano *Tithonia tubaeformis* (Asteraceae) en suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo. *Ecología Austral* 15:177-181.
- Lasat, M. M. 2002.** Phytoextraction of Toxic Metals *Journal of Environmental Quality* 31:109-120.
- Li, Y. M., R. L. Chaney, E. P. Brewer, J. S. Angle and J. Nelkin, 2003.** Phytoextraction of nickel and cobalt by hyperaccumulator *Alyssum* species grown on nickel-contaminated soils. *Environmental Science & Technology*, 37: 1463-1468.
- Li, X. F., J. F. Ma. and H. Matsumoto. 2002.** Aluminium-induced secretion of both citrate and malate in rye. *Plant and Soil* 242: 235-243.
- Lombi, E., F.J. Zhao, S. J. Dunham and S. P. McGrath. 2001.** Phytoremediation of Heavy Metal–Contaminated Soils *Journal of Environmental Quality* 30:1919-1926.
- López-Martínez, S. M., E. Gallegos-Martínez, L. J. P. Flores y M. G. Rojas. 2005.** Mecanismos de fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticas *rev. int. contam. ambient.* 21(2): 91-100.
- Lugo-Morin, D. R. 2007.** Evaluación del riesgo agroambiental de los suelos de las comunidades indígenas del estado Anzoátegui, Venezuela. *Ecosistemas* 16 (1): 69-79.
- Llugany, R., C. Tolrá, J. Poschnrieder, M. Barceló. 2007.** Hiperacumulación de metales: ¿una ventaja para la planta y para el hombre? *Ecosistemas* 16 (2): 4-9.
- Luo, L. L., Z. G. Shen and X. D. Li. 2008.** Root Exudates Increase Metal Accumulation in Mixed Cultures: Implications for Naturally Enhanced Phytoextraction. *Water Air Soil Pollut.* 193:147–154.

Martínez, M., P. Bernal, C. Almela, D. Vélez, P. García-Agustín, R. Serrano and J. Navarro-Aviñó, 2006. An engineered plant that accumulates higher levels of heavy metals than *Thlaspi caerulescens*, with yields of 100 times more biomass in mine soils. *Chemosphere*, 64: 478-485.

McGrath, S. P., E. Lombi, C. W. Gray, N. Caille, S. J. Dunham and F. J. Zhao, 2006. Field evaluation of Cd and Zn phytoextraction potential by the hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri*. *Environmental Pollution*, 141: 115-125.

McKay, W. A., T. D. Davis and D. Sankhla. 2001. Influence of scarification and temperature on seed germination of *Lupinus arboreus*. *Seed Science Technology* 29: 543-548.

Mason, B. 1992. Preparation of soil sampling protocols: sampling techniques and strategies. US EPA, EPA/600/R-92/128. 169 pp.

Máthé-Gáspár, G. and A. Antón. 2005. Phytoremediation study: Factors influencing heavy metal uptake of plants. Proceedings of the 8th Hungarian Congress on Plant Physiology and the 6th Hungarian Conference on Photosynthesis, *Acta Biologica Szegediensis* Volume 49(1-2):69-70.

Maruyama-Nakashita, A., E. Inoue, K. Saito, H. Takahashi. 2007. Sulfur-responsive promoter of sulfate transporter gene is potentially useful to detect and quantify selenate and chromate. *Plant Biotechnology* 24, 261–263.

Méndez, N. J. R., B. C. F. Mujica, M. F. B. Pino. 2005. Efecto de la contaminación con petróleo sobre los caracteres de la nodulación en el cultivo de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) en dos suelos del estado Monagas. *Revista UDO Agrícola* 5 (1): 81-87.

Mendoza, B. y R. Ramírez. 2001. Influencia de los hongos micorrízicos arbusculares sobre la producción de materia seca y absorción de fósforo por plantas de maíz fertilizadas con roca fosfórica. XV Congreso Latinoamericano de la ciencia del suelo. Cuba.

Mancera-Rodríguez, J. N. y R. Á. León. 2006. Estado del conocimiento de las concentraciones de mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia. *Acta biol. Colomb.* 11(1). 3-23.

Montenegro, G. y C. Fredes. 2008. Relación entre el origen floral y el perfil de elementos minerales en mieles chilenas *Gayana Bot.* 65(1): 122-125.

Moraga, R. C. M. y M. A. Mondaca. 2003. Resistencia a metales pesados en bacterias aisladas de la bahía de Iquique. *Investigaciones marinas* 31(1) 91-95.

Mulligan, C. N., R. N. Yong and B. F. Gibbs. 2001. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation *Engineering geology* 60 193-207.

Navarro-Aviñó, J., P. A. Alonso, J. R. López-Moya. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas* 16 (2): 10-25.

Ndiokwere, C. L. and P. O. Oviasogie. 2007. Fractionation of Pb and Cd in Refuse Dump Soil treated with Cassava Mill Effluent. *Journal of Applied Sciences*. 1-4.

Okoh, A. I. and M. R. Trejo-Hernandez. 2006. Remediation of petroleum hydrocarbon polluted systems: Exploiting the bioremediation strategies. *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (25), pp. 2520-2525.

Olayinka, I. N. 2008. Contaminant source as factor of soil heavy metals toxicity and Bioavailability to plants. *Environmental Research Journal*. 2(6): 322-326.

Parrish, Z. K., M. K. Banks and A. P. Schwab. 2005. Effect of Root Death and Decay on Dissipation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Rhizosphere of Yellow Sweet Clover and Tall Fescue. *J. Environ. Qual.* 34:207-216.

Pastor, J. N. 1999. Utilización de sustratos en vivero. *TERRA* 17: 231-235

Peñalosa, E., J. Martínez, A. Montenegro y L. Corcuera. 2004. Respuesta de dos especies de Lupino a aluminio fitóxico. *Agricultura técnica*. 64(2): 1-11.

Peralta, J. R., J. L. Gardea-Torresdey, K.J. Tiemann, E. Gómez, S. Arteaga, E. Rascon, and J.G. Parsons. 2000. Study of the effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*) grown in solid media. *Proceedings of the 2000 Conference on Hazardous Waste Research*. 135-140

Piechalak, A., A. Malecka, D. Baralkiewicz and B. Tomaszewska. 2008. Lead uptake, toxicity and accumulation in *Phaseolus vulgaris* plants. *Biologia Plantarum* 52 (3). 565-568.

Pietrosemoli, S. y J. Mendiri. 1997. Respuesta a la escarificación de semillas de *Clitoria ternatea* L. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 5 (1): 28-29.

Porebska, G. and A. Ostrowska. 1999. Heavy Metal Accumulation in Wild Plants: Implications for Phytoremediation. *Polish Journal of Environmental Studies* 6 (8): 433-442.

Prieto, M. J., A. César, A. G. Ramírez, D. R. Gutiérrez y F. P. García. 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10: 29-44.

Puga, S., M. Sosa, A. Mora, C. Pinedo y J. Jiménez. 2006. Concentraciones de As y Zn en vegetación nativa cercana a una presa de jales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 22 (2): 75-82.

Qadir, M., A. Chafoor and G. Murtaza. 2000. Cadmium Concentration in Vegetables Grown on Urban Soils Irrigated with Untreated Municipal sewage. *Environment, Development and Sustainability*. 2 (1) 11-19.

Quiñones-Aguilar, E. E., R. Ferrera-Cerrato, F. Gavi-Reyes, L. Fernández-Linares, R. Rodríguez-Vázquez y A. Alarcón. 2003. Emergencia y crecimiento de maíz en un suelo contaminado con petróleo crudo. *Agrociencia* 37: 585-594.

- Razz, R. y T. Clavero. 2003.** Efecto de la escarificación, remojo y tiempos de almacenamiento sobre la germinación de *Pithecellobium dulce*. Rev. Fac. Agron. 20 (2): 1-6.
- Razz, R. y T. Clavero. 1996.** Metodos de ecarificación en semillas de *Humboldtiella ferruginea* y *Leucaena leucocephala*. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 13: 73-77.
- Reid, R. J., J. E. Hayes, A. Post, J. C. R. Stangoulis and R. D. Graham. 2004.** A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. Plant, Cell and Environment. 25: 1405-1414.
- Reyes, O. and M. Casal. 2004.** Effects of forest fire ash on germination and early growth of four *Pinus* species. Plant Ecology 175: 81-89.
- Rivera-Cruz, M. C., A. Trujillo-Narcía, M. A. M. Cruz, y CH. E. Maldonado. 2005.** Evaluación toxicologica de suelos contaminados con petróleos nuevo e interperizado mediante ensayos con leguminosas. Interciencia 30 (6): 15-24.
- Rivera-Cruz, M. C., A. Trujillo-Narcía. 2004.** Estudio de toxicidad vegetal en suelos contaminados con petróleo nuevo e interperizado. Interciencia 29 (7): 369-376.
- Rodríguez, D. A. and P. Z. Fulé. 2003.** Fire eology of mexican pines and a fire management proposal. Internat. J. Wildland Fire 12: 23-37.
- Robinson, B. H., M. Leblanc, J. H. Kirkman and P. E. H. Gregg. 1998.** The potential of *Thaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils. Plant and Soil. 203: 47-56.
- Sangabriel, W., R. Ferrera-Cerrato, D. A. Trejo, M. R. M. López, J. S. C. Sánchez, C. L. Ortiz, J. D. Martínez y A. Alarcón. 2006.** Tolerancia y capacidad de fitorremediación de combustóleo en el suelo por seis especies vegetales. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 22 (2): 63-73.
- Sánchez-Moreno, S., J. A. Camargo and A. Navas. 2006.** Ecotoxicological Assessment of the impact of residual heavy metals on soil nematodes in the Guadamar River Basin (Southern Spain). Environmental Monitoring and Assessment 116: 245–262.
- Sánchez-Paz, Y. y M. Ramírez-Villalobos. 2006.** Tratamientos pregerminativos en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 23: 257-272.
- SAS, 2003.** SAS/STAT Users Guide. 8th. Edn. Statistical Analysis Institute Inc., Cary North, Carolina.
- Stat-soft Inc 2003.** Statistics: User guides. 2325 East 13th Street, Tulsa Ok. 75104. USA.
- Sterckeman, T., J. Perriguet, M. Caël, C. Schwartz and J. L. Morel. 2004.** Applying a mechanistic model to cadmium uptake by *Zea mays* and *Thlaspi caerulescens*: Consequences for the assessment of the soil quantity and capacity factors. *Plant and Soil* 262: 289–302.

Su, Y., X. Yang and C. T. Chiou. 2008. Effect of rhizosphere on soil microbial community and in-situ pyrene biodegradation. *Front. Environ. Sci. Engin. China*, 2(4): 468–474.

Suárez, P. y R. Reyes. 2002. La incorporación de metales pesados en las bacterias y su importancia para el ambiente. *Interciencia* 27(4): 160-164.

Sukkariyah, B. F., G. Evanylo, L. Zelazny and R. L. Chaney. 2005. Cadmium, Copper, Nickel, and Zinc Availability in a Biosolids-Amended Piedmont Soil Years after Application. *Environ Qual* 34:2255-2262.

Tassi, E., M. Barbafieri, L. Rizzi and G. Petruzzelli. 2003. Phytoextraction of Pb and As by *Lupinus albus* and *Brassica juncea* in microcosm tests. Meeting in Stockholm, Sweden: Workshop “Phytoremediation of toxic metals”. 12-15.

Torres, G., A. E. Navarro, J. Languasco, K. Campos y N. A. Cuizano. 2007. Estudio preliminar de la fitoremediación de cobre divalente mediante *Pistia stratioides* (lechuga de agua). *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 3 (1): 13-20.

Trujillo, N. A., C. J. Zavala, A. L. Bucio. 1991. Contaminación por hidrocarburos y metales pesados en suelos inundables de Tabasco. La investigación edafológica en México. Memorias XXIV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del suelo. Pachuca, Hidalgo México 74.

Trujillo, N. A., C. J. Zavala, E. L. C. Lagunés. 1995. Contaminación de suelos por metales pesados e hidrocarburos aromáticos en Tabasco. VIII Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria Tabasco. 45-52.

Trujillo, N. A., L. C. E. Lagunés, J. C. Zavala. 1995. Afectaciones petroleras en suelos y cultivos en el estado de Tabasco. Memorias XXVI Congreso Nacional de la ciencia del suelo. Cd Victoria, Tamaulipas, México p40.

Trujillo, N. A., L. C. E. Lagunés, G. A. R. González. 1995. Metales pesados e hidrocarburos en suelos del estado de Tabasco. Memorias XXVI Congreso Nacional de la ciencia del suelo. Cd Victoria, Tamaulipas, México. 41.

Trujillo, N. A., L. C. E. Lagunés, J. A. A. Bocanegra. 1995. Dinámica de metales pesados en suelos y ríos en Comalcalco, Tabasco. Memorias XXVI Congreso Nacional de la ciencia del suelo. Cd Victoria, Tamaulipas, México. 42.

Ulrich, A., T. Barrelet, R. Figi, H. Rennenberg and U. Krähenbühl. 2009. *Microchim Acta* 165:79–89.

Valencia, I. E. y B. A. Hernández. 2002. Muestreo de suelos, preparación de muestras y guía de campo. UNAM. 131 pp.

Venkata, M. S., T. Kisa, T. Ohkuma, R. A. Kanaly and Y. Shimizu. 2006. Bioremediation technologies for treatment of PAH-contaminated soil and strategies to enhance process efficiency. *Rev Environ Sci Biotechnol* 5:347–374.

- Villanueva, A. J. F., C. J. A. Bonilla, J. V. R. Ceja y J. J. B. Guerrero. 2004.** Agrotecnia y utilización de *C. Ternatea* en sistemas de producción de carne y leche. *Tec. Pecuaria Mex.* 42 (1) 79-96.
- Wallace, G. A. and A. Wallace. 1994.** Lead and other potentially toxic heavy metals in soils common. *Soil Sci. Plant Anal.* 25: 137-140.
- Wang, C., S. H. Zhang, P. F. Wang, J. Qian, J. Hou, W. J. Zhang and J. Lu. 2009.** Excess Zn alters the nutrient uptake and induces the antioxidative responses in submerged plant *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle. *Chemosphere*. In Press.
- Wang, K. R., H. Gong, S. E. A. Wang, T. M. V. D. Zee. 2004.** Toxic effects of Cadmium on *Morus Alba* L. and *Bombyx mori* L. *Plant and Soil.* 261: 171-180.
- Watt, M. y J. Evans. 1999.** Proteoid roots physiology and development. *Plant Physiol.* 121, 317-323.
- White, Jr. P. M., D. E. Wolf, J. G. Thomas, and C. M. Reynolds. 2006.** phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil-contaminated soil. *Water, Air, and Soil Pollution* 169: 207–220.
- Ximénez-Embún, P., Y. Madrid-Albarrán, C. Camara, C. Cuadrado, C. Burbano, M. Múzquiz. 2001.** Evaluation of Lupinus Species to Accumulate Heavy Metals From Waste Waters. *International Journal of Phytoremediation.* 3 (4): 369-379.
- Yang, X. E., X. X. Long, H. B. Ye, Z. L. He, D. V. Calvert and P. J. Stoffella. 2004.** Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn-hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance) *Plant and Soil.* 259: 181–189.
- Yanqun, Z., L. Yuan, C. Jianjun, C. Haiyan, Q. Li and C. Schwartz 2005.** Hyperaccumulation of Pb, Zn and Cd in herbaceous grown on lead–zinc mining area in Yunnan, China *Environment International* 31 (5): 755-762.
- Youngman, A. L., T. L. Williams and L.S. Tien. 1998.** Patterns of Accumulation of heavy metals in non-woody vegetation established on Zinc-lead smelter contaminated.
- Zobel, B. y J. Talbert. 1988.** Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales. Editorial Limusa, S. A. México 545 p.

ANEXOS

ANEXO I. Características físicas y químicas del suelo utilizado en el experimento obtenido a tres distancias A (20m), B (50m) y C (100m) a partir de un pozo de extracción de petróleo.

Características físicas y químicas del suelo utilizado en el experimento obtenido a tres distancias A (20m), B (50m) y C (100m) a partir de un pozo de extracción de petróleo.

Sitios	A(20m)	B(50m)	C(100m)
Propiedades físicas			
% Arena	45	42	43
%Limo	40	41	36
% Arcilla	15	17	21
Clase textural	F	F	F
Humedad Gravimétrica	5.5	5.1	6.6
% de Capacidad de Campo	34.6	39.2	35.6
% de Punto de Marchitez Permanente	16.6	18.7	16.7
Conductividad Eléctrica ($S m^{-1}$)	3.95	2.70	2.50
Conductividad Hidráulica ($cm h^{-1}$)	1.76	0.72	0.79
% P. Saturación	71.1	68.8	66.7
Densidad aparente ($g cm^{-3}$)	1.14	1.09	1.15
Densidad real ($g cm^{-3}$)	2.36	2.27	2.28
Propiedades químicas			
Ph Rel 1:2	6.29	6.12	6.16
% M.O.	8.09	8.89	5.69
% N total	0.23	0.26	0.23
P mg (kg^{-1})	Trazas	Trazas	Trazas
K ($cmol g^{-1}$)	0.78	0.75	0.75
Na Intercambiable ($cmol kg^{-1}$)	1.63	1.10	1.05
Mn ($mg Kg^{-1}$)	1.94	1.98	1.56
Fe ($mg Kg^{-1}$)	35.4	59.8	38

ANEXO II. Análisis de varianza y pruebas de comparación de medias para todos los factores y para todas las variables evaluadas en este trabajo de investigación

Obs	ESP	SUELO	ORGAN	REP	PESOORG	CONCCU	CONCZN	CONCPB	CONCCD	CONCNI	CONTCU	CONTZN
1	1	1	1	1	0.13	0.080	1.33	0.25	0.26	0.94	.00001040	.0001729
2	1	1	1	2	0.09	0.060	1.23	0.22	0.23	0.89	.00000540	.0001107
3	1	1	1	3	0.10	0.100	1.43	0.28	0.29	0.99	.00001000	.0001430
4	1	1	1	4	0.12	0.110	1.38	0.19	0.20	0.91	.00001320	.0001656
5	1	1	1	5	0.13	0.050	1.28	0.31	0.32	0.97	.00000650	.0001664
6	1	1	1	6	0.11	0.070	1.32	0.27	0.28	0.95	.00000770	.0001452
7	1	1	2	1	0.05	0.060	0.85	0.68	0.25	0.91	.00000300	.0000425
8	1	1	2	2	0.08	0.040	0.89	0.63	0.19	0.88	.00000320	.0000712
9	1	1	2	3	0.09	0.070	0.81	0.73	0.31	0.94	.00000630	.0000729
10	1	1	2	4	0.11	0.050	0.78	0.71	0.28	0.92	.00000550	.0000858
11	1	1	2	5	0.11	0.070	0.92	0.65	0.22	0.90	.00000770	.0001012
12	1	1	2	6	0.07	0.090	0.88	0.69	0.24	0.93	.00000630	.0000616
13	1	1	3	1	0.05	0.110	2.89	0.87	0.25	0.93	.00000550	.0001445
14	1	1	3	2	0.04	0.080	2.83	0.79	0.21	0.87	.00000320	.0001132
15	1	1	3	3	0.03	0.140	2.94	0.95	0.29	0.99	.00000420	.0000882
16	1	1	3	4	0.05	0.100	2.79	0.83	0.26	0.91	.00000500	.0001395
17	1	1	3	5	0.07	0.120	2.99	0.92	0.24	0.95	.00000840	.0002093
18	1	1	3	6	0.06	0.120	2.90	0.85	0.27	0.92	.00000720	.0001740
19	1	2	1	1	0.10	0.060	0.92	0.23	0.25	0.91	.00000600	.0000920
20	1	2	1	2	0.08	0.040	0.96	0.25	0.23	0.98	.00000320	.0000768
21	1	2	1	3	0.09	0.070	0.89	0.22	0.26	0.80	.00000630	.0000801
22	1	2	1	4	0.10	0.060	0.90	0.19	0.22	0.94	.00000600	.0000900
23	1	2	1	5	0.12	0.050	0.99	0.27	0.27	0.96	.00000600	.0001188
24	1	2	1	6	0.07	0.080	0.88	0.24	0.30	0.90	.00000560	.0000616
25	1	2	2	1	0.08	0.080	0.66	0.66	0.23	0.88	.00000640	.0000528
26	1	2	2	2	0.04	0.090	0.65	0.65	0.25	0.86	.00000360	.0000260
27	1	2	2	3	0.04	0.060	0.58	0.72	0.23	0.93	.00000240	.0000232
28	1	2	2	4	0.05	0.070	0.69	0.60	0.21	0.83	.00000350	.0000345
29	1	2	2	5	0.08	0.080	0.71	0.62	0.26	0.87	.00000640	.0000568
30	1	2	2	6	0.07	0.090	0.64	0.70	0.20	0.91	.00000630	.0000448
31	1	2	3	1	0.04	0.120	2.70	0.72	0.25	0.89	.00000480	.0001080
32	1	2	3	2	0.05	0.130	2.50	0.74	0.23	0.90	.00000650	.0001250
33	1	2	3	3	0.02	0.140	2.40	0.69	0.26	0.87	.00000280	.0000480
34	1	2	3	4	0.02	0.160	2.90	0.76	0.22	0.83	.00000320	.0000580
35	1	2	3	5	0.03	0.110	3.00	0.70	0.24	0.95	.00000330	.0000900
36	1	2	3	6	0.02	0.080	2.79	0.74	0.30	0.88	.00000160	.0000558
37	1	3	1	1	0.08	0.050	0.84	0.31	0.28	0.98	.00000400	.0000672
38	1	3	1	2	0.06	0.020	0.91	0.27	0.23	0.88	.00000120	.0000546
39	1	3	1	3	0.10	0.080	0.75	0.34	0.33	1.08	.00000800	.0000750
40	1	3	1	4	0.12	0.070	0.79	0.33	0.25	0.95	.00000840	.0000948
41	1	3	1	5	0.10	0.030	0.89	0.29	0.31	1.02	.00000300	.0000890
42	1	3	1	6	0.09	0.055	0.76	0.29	0.27	0.97	.00000495	.0000684
43	1	3	2	1	0.07	0.080	0.70	0.94	0.31	1.03	.00000560	.0000490
44	1	3	2	2	0.05	0.050	0.40	0.86	0.28	0.92	.00000250	.0000200
45	1	3	2	3	0.06	0.110	1.00	1.02	0.34	0.97	.00000660	.0000600
46	1	3	2	4	0.07	0.060	0.90	0.91	0.32	1.14	.00000420	.0000630
47	1	3	2	5	0.06	0.100	0.50	0.97	0.30	1.10	.00000600	.0000300
48	1	3	2	6	0.05	0.090	0.70	0.95	0.31	1.05	.00000450	.0000350
49	1	3	3	1	0.07	0.12	2.46	0.78	0.25	0.96	.0000084	.0001722
50	1	3	3	2	0.04	0.10	2.39	0.72	0.19	0.86	.0000040	.0000956
51	1	3	3	3	0.05	0.14	2.53	0.86	0.31	1.06	.0000070	.0001265
52	1	3	3	4	0.06	0.09	2.42	0.81	0.22	0.93	.0000054	.0001452
53	1	3	3	5	0.05	0.15	2.46	0.75	0.28	1.00	.0000075	.0001230
54	1	3	3	6	0.06	0.13	2.48	0.74	0.26	1.08	.0000078	.0001488
55	2	1	1	1	0.08	0.89	0.61	1.37	0.19	1.11	.0000712	.0000488
56	2	1	1	2	0.10	0.90	0.63	1.52	0.16	1.09	.0000900	.0000630
57	2	1	1	3	0.07	0.92	0.64	1.35	0.18	1.06	.0000644	.0000448
58	2	1	1	4	0.07	0.86	0.58	1.33	0.26	1.11	.0000602	.0000406
59	2	1	1	5	0.08	0.86	0.62	1.23	0.15	1.10	.0000688	.0000496
60	2	1	1	6	0.10	0.91	0.60	1.40	0.19	1.20	.0000910	.0000600
61	2	1	2	1	0.07	0.79	0.80	2.19	0.58	2.19	.0000553	.0000560
62	2	1	2	2	0.06	0.87	0.60	2.14	0.57	2.13	.0000522	.0000360
63	2	1	2	3	0.06	0.77	0.70	2.00	0.52	2.16	.0000462	.0000420
64	2	1	2	4	0.06	0.81	0.80	2.11	0.50	2.11	.0000486	.0000480
65	2	1	2	5	0.05	0.74	1.00	2.30	0.70	2.29	.0000370	.0000500
66	2	1	2	6	0.06	0.75	0.90	2.40	0.60	2.22	.0000450	.0000540
67	2	1	3	1	0.05	1.07	1.28	2.19	0.14	1.21	.0000535	.0000640
68	2	1	3	2	0.04	0.99	1.50	2.12	0.12	1.26	.0000396	.0000600
69	2	1	3	3	0.05	1.09	1.33	2.04	0.09	1.25	.0000545	.0000665
70	2	1	3	4	0.05	1.08	1.20	2.09	0.19	1.35	.0000540	.0000600
71	2	1	3	5	0.07	1.12	1.30	2.34	0.14	1.10	.0000784	.0000910
72	2	1	3	6	0.06	1.06	1.10	2.35	0.17	1.09	.0000636	.0000660
73	2	2	1	1	0.06	0.58	0.42	1.24	0.32	1.24	.0000348	.0000252
74	2	2	1	2	0.06	0.56	0.55	1.16	0.27	1.11	.0000336	.0000330
75	2	2	1	3	0.08	0.63	0.48	1.32	0.37	1.37	.0000504	.0000384
76	2	2	1	4	0.09	0.57	0.41	1.28	0.29	1.16	.0000513	.0000369
77	2	2	1	5	0.05	0.49	0.35	1.20	0.35	1.32	.0000245	.0000175
78	2	2	1	6	0.06	0.65	0.31	1.23	0.33	1.26	.0000390	.0000186
79	2	2	2	1	0.05	0.72	0.78	1.87	0.33	1.86	.0000360	.0000390
80	2	2	2	2	0.04	0.65	0.73	1.75	0.29	1.82	.0000260	.0000292
81	2	2	2	3	0.07	0.71	0.79	1.95	0.35	1.90	.0000497	.0000553
82	2	2	2	4	0.04	0.80	0.80	1.84	0.32	1.78	.0000320	.0000320
83	2	2	2	5	0.05	0.71	0.81	1.90	0.34	1.94	.0000355	.0000405

84	2	2	2	6	0.06	0.75	0.77	1.89	0.35	1.88	.0000450	.0000462
85	2	2	3	1	0.03	1.05	1.14	3.25	0.24	3.25	.0000315	.0000342
86	2	2	3	2	0.04	1.09	1.11	3.11	0.21	3.13	.0000436	.0000444
87	2	2	3	3	0.02	1.01	1.19	3.39	0.27	3.37	.0000202	.0000238
88	2	2	3	4	0.05	0.99	1.20	3.15	0.19	3.21	.0000495	.0000600
89	2	2	3	5	0.07	1.11	1.03	3.35	0.29	3.29	.0000777	.0000721
90	2	2	3	6	0.06	1.06	1.15	3.27	0.23	3.24	.0000636	.0000690
91	2	3	1	1	0.06	0.51	0.31	1.93	0.62	1.93	.0000306	.0000186
92	2	3	1	2	0.07	0.44	0.26	1.81	0.50	1.85	.0000308	.0000182
93	2	3	1	3	0.05	0.58	0.37	2.05	0.72	1.99	.0000290	.0000185
94	2	3	1	4	0.08	0.53	0.32	1.95	0.55	1.88	.0000424	.0000256
95	2	3	1	5	0.05	0.48	0.29	1.91	0.69	1.97	.0000240	.0000145
96	2	3	1	6	0.07	0.52	0.30	1.94	0.63	1.95	.0000364	.0000210
97	2	3	2	1	0.05	0.41	0.75	2.32	0.29	2.32	.0000205	.0000375
98	2	3	2	2	0.07	0.44	0.71	2.15	0.31	2.17	.0000308	.0000497
99	2	3	2	3	0.05	0.34	0.78	2.20	0.27	2.47	.0000170	.0000390
100	2	3	2	4	0.06	0.47	0.69	2.48	0.23	2.36	.0000282	.0000414
101	2	3	2	5	0.04	0.43	0.81	2.44	0.35	2.28	.0000172	.0000324
102	2	3	2	6	0.03	0.39	0.77	2.32	0.30	2.31	.0000117	.0000231
103	2	3	3	1	0.03	0.69	0.66	0.82	0.39	0.82	.0000207	.0000198
104	2	3	3	2	0.05	0.65	0.63	0.79	0.35	0.78	.0000325	.0000315
105	2	3	3	3	0.03	0.73	0.69	0.85	0.43	0.86	.0000219	.0000207
106	2	3	3	4	0.03	0.66	0.71	0.77	0.40	0.79	.0000198	.0000213
107	2	3	3	5	0.04	0.72	0.61	0.87	0.37	0.85	.0000288	.0000244
108	2	3	3	6	0.05	0.70	0.67	0.83	0.41	0.82	.0000350	.0000335
109	3	1	1	1	0.13	0.83	0.63	2.19	0.19	0.38	.0001079	.0000819
110	3	1	1	2	0.09	0.81	0.51	1.99	0.16	0.33	.0000729	.0000459
111	3	1	1	3	0.10	0.85	0.55	2.39	0.22	0.34	.0000850	.0000550
112	3	1	1	4	0.10	0.79	0.75	2.16	0.21	0.39	.0000790	.0000750
113	3	1	1	5	0.09	0.87	0.71	2.22	0.17	0.38	.0000783	.0000639
114	3	1	1	6	0.08	0.84	0.65	2.21	0.19	0.46	.0000672	.0000520
115	3	1	2	1	0.08	1.38	0.75	1.08	0.26	0.67	.0001104	.0000600
116	3	1	2	2	0.08	1.33	0.64	1.03	0.22	0.63	.0001064	.0000512
117	3	1	2	3	0.09	1.43	0.86	1.13	0.31	0.70	.0001287	.0000774
118	3	1	2	4	0.09	1.35	0.71	0.99	0.23	0.61	.0001215	.0000639
119	3	1	2	5	0.08	1.41	0.79	1.17	0.29	0.73	.0001128	.0000632
120	3	1	2	6	0.07	1.39	0.76	1.10	0.25	0.68	.0000973	.0000532
121	3	1	3	1	0.05	1.47	1.15	1.15	0.21	0.68	.0000735	.0000575
122	3	1	3	2	0.05	1.39	1.08	1.04	0.17	0.65	.0000695	.0000540
123	3	1	3	3	0.03	1.55	1.22	1.09	0.19	0.71	.0000465	.0000366
124	3	1	3	4	0.03	1.43	1.18	1.26	0.25	0.63	.0000429	.0000354
125	3	1	3	5	0.04	1.51	1.12	1.21	0.23	0.73	.0000604	.0000448
126	3	1	3	6	0.06	1.48	1.14	1.14	0.22	0.66	.0000888	.0000684
127	3	2	1	1	0.07	0.52	0.63	0.59	0.22	0.70	.0000364	.0000441
128	3	2	1	2	0.10	0.48	0.61	0.58	0.19	0.64	.0000480	.0000610
129	3	2	1	3	0.18	0.56	0.65	0.61	0.21	0.76	.0001008	.0001170
130	3	2	1	4	0.10	0.51	0.71	0.55	0.23	0.67	.0000510	.0000710
131	3	2	1	5	0.11	0.53	0.55	0.63	0.25	0.73	.0000583	.0000605
132	3	2	1	6	0.07	0.52	0.65	0.58	0.22	0.71	.0000364	.0000455
133	3	2	2	1	0.07	0.57	0.43	0.71	0.14	0.64	.0000399	.0000301
134	3	2	2	2	0.07	0.50	0.39	0.66	0.11	0.62	.0000350	.0000273
135	3	2	2	3	0.09	0.64	0.47	0.75	0.17	0.66	.0000576	.0000423
136	3	2	2	4	0.08	0.55	0.43	0.73	0.12	0.63	.0000440	.0000344
137	3	2	2	5	0.09	0.59	0.44	0.69	0.16	0.65	.0000531	.0000396
138	3	2	2	6	0.07	0.58	0.42	0.72	0.15	0.66	.0000406	.0000294
139	3	2	3	1	0.03	0.79	1.02	0.62	0.14	0.29	.0000237	.0000306
140	3	2	3	2	0.05	0.65	0.97	0.60	0.10	0.27	.0000325	.0000485
141	3	2	3	3	0.04	0.93	1.07	0.64	0.18	0.31	.0000372	.0000428
142	3	2	3	4	0.05	0.75	1.05	0.58	0.13	0.25	.0000375	.0000525
143	3	2	3	5	0.06	0.83	0.99	0.66	0.15	0.34	.0000498	.0000594
144	3	2	3	6	0.04	0.77	1.00	0.61	0.15	0.30	.0000308	.0000400
145	3	3	1	1	0.09	0.80	0.73	0.60	0.30	1.24	.0000720	.0000657
146	3	3	1	2	0.09	0.65	0.70	0.52	0.26	1.21	.0000585	.0000630
147	3	3	1	3	0.10	0.95	0.76	0.68	0.34	1.23	.0000950	.0000760
148	3	3	1	4	0.08	0.83	0.68	0.55	0.28	1.28	.0000664	.0000544
149	3	3	1	5	0.07	0.77	0.78	0.65	0.32	1.27	.0000539	.0000546
150	3	3	1	6	0.06	0.78	0.72	0.61	0.31	1.20	.0000468	.0000432
151	3	3	2	1	0.07	0.78	0.75	0.67	0.21	0.67	.0000546	.0000525
152	3	3	2	2	0.07	0.66	0.72	0.66	0.18	0.65	.0000462	.0000504
153	3	3	2	3	0.08	0.93	0.82	0.69	0.24	0.69	.0000744	.0000656
154	3	3	2	4	0.06	0.81	0.73	0.65	0.22	0.71	.0000486	.0000438
155	3	3	2	5	0.05	0.74	0.71	0.63	0.20	0.63	.0000370	.0000355
156	3	3	2	6	0.06	0.77	0.79	0.70	0.19	0.68	.0000462	.0000474
157	3	3	3	1	0.04	1.30	1.31	1.11	0.28	1.11	.0000520	.0000524
158	3	3	3	2	0.03	1.11	1.29	1.05	0.31	1.09	.0000333	.0000387
159	3	3	3	3	0.04	1.49	1.33	1.17	0.25	1.13	.0000596	.0000532
160	3	3	3	4	0.04	1.25	1.28	1.09	0.27	1.10	.0000500	.0000512
161	3	3	3	5	0.05	1.35	1.34	1.13	0.30	1.12	.0000675	.0000670
162	3	3	3	6	0.04	1.31	1.32	1.10	0.28	1.12	.0000524	.0000528
163	4	1	1	1	0.20	1.27	0.68	1.30	0.20	2.10	.0002540	.0001360
164	4	1	1	2	0.10	1.25	0.66	1.11	0.16	1.89	.0001250	.0000660
165	4	1	1	3	0.11	1.29	0.71	1.49	0.24	2.21	.0001419	.0000781
166	4	1	1	4	0.16	1.32	0.62	1.16	0.18	2.05	.0002112	.0000992
167	4	1	1	5	0.18	1.22	0.74	1.44	0.22	2.17	.0002196	.0001332
168	4	1	1	6	0.19	1.28	0.67	1.34	0.21	2.16	.0002432	.0001273
169	4	1	2	1	0.11	1.04	0.87	1.80	0.16	1.38	.0001144	.0000957

170	4	1	2	2	0.08	0.97	0.84	1.61	0.14	1.35	.0000776	.0000672
171	4	1	2	3	0.14	1.11	0.90	1.89	0.15	1.41	.0001554	.0001260
172	4	1	2	4	0.08	1.02	0.85	1.75	0.19	1.36	.0000816	.0000680
173	4	1	2	5	0.11	1.04	0.89	1.85	0.12	1.41	.0001144	.0000979
174	4	1	2	6	0.13	1.05	0.88	1.86	0.20	1.37	.0001365	.0001144
175	4	1	3	1	0.03	1.85	1.42	1.96	0.14	0.26	.0000555	.0000426
176	4	1	3	2	0.03	1.79	1.35	1.91	0.11	0.24	.0000537	.0000405
177	4	1	3	3	0.05	1.91	1.39	1.93	0.17	0.28	.0000955	.0000695
178	4	1	3	4	0.06	1.86	1.49	2.10	0.13	0.23	.0001116	.0000894
179	4	1	3	5	0.05	1.84	1.45	1.96	0.16	0.29	.0000920	.0000725
180	4	1	3	6	0.06	1.85	1.44	1.94	0.14	0.27	.0001110	.0000864
181	4	2	1	1	0.24	1.26	0.75	1.94	0.14	0.73	.0003024	.0001800
182	4	2	1	2	0.14	1.24	0.74	1.91	0.13	0.71	.0001736	.0001036
183	4	2	1	3	0.18	1.28	0.79	1.97	0.16	0.74	.0002304	.0001422
184	4	2	1	4	0.14	1.21	0.70	1.96	0.12	0.78	.0001694	.0000980
185	4	2	1	5	0.16	1.31	0.73	1.92	0.16	0.69	.0002096	.0001168
186	4	2	1	6	0.15	1.27	0.77	1.95	0.13	0.72	.0001905	.0001155
187	4	2	2	1	0.06	0.91	0.66	1.09	0.13	0.71	.0000546	.0000396
188	4	2	2	2	0.10	0.89	0.51	1.03	0.11	0.67	.0000890	.0000510
189	4	2	2	3	0.11	0.93	0.81	1.15	0.15	0.75	.0001023	.0000891
190	4	2	2	4	0.11	0.95	0.62	1.07	0.12	0.69	.0001045	.0000682
191	4	2	2	5	0.09	0.87	0.71	1.11	0.14	0.73	.0000783	.0000639
192	4	2	2	6	0.10	0.92	0.65	1.07	0.12	0.71	.0000920	.0000650
193	4	2	3	1	0.05	0.98	0.99	1.60	0.18	0.26	.0000490	.0000495
194	4	2	3	2	0.06	0.95	0.86	1.51	0.17	0.21	.0000570	.0000516
195	4	2	3	3	0.05	1.01	1.12	1.69	0.21	0.31	.0000505	.0000560
196	4	2	3	4	0.05	0.97	0.95	1.55	0.15	0.24	.0000485	.0000475
197	4	2	3	5	0.05	0.99	1.03	1.65	0.13	0.28	.0000495	.0000515
198	4	2	3	6	0.07	1.00	1.00	1.62	0.23	0.25	.0000700	.0000700
199	4	3	1	1	0.22	1.28	1.42	1.94	0.14	0.72	.0002816	.0003124
200	4	3	1	2	0.17	1.28	1.61	1.88	0.13	0.69	.0002176	.0002737
201	4	3	1	3	0.22	1.29	1.73	1.69	0.15	0.75	.0002838	.0003806
202	4	3	1	4	0.18	1.25	1.32	1.96	0.11	0.67	.0002250	.0002376
203	4	3	1	5	0.20	1.34	1.44	1.74	0.17	0.77	.0002680	.0002880
204	4	3	1	6	0.18	1.22	1.01	2.43	0.14	0.71	.0002196	.0001818
205	4	3	2	1	0.09	0.92	0.66	1.09	0.19	0.69	.0000828	.0000594
206	4	3	2	2	0.10	0.99	0.71	1.28	0.16	0.61	.0000990	.0000710
207	4	3	2	3	0.09	0.88	0.88	1.10	0.22	0.77	.0000792	.0000792
208	4	3	2	4	0.08	0.89	0.74	1.02	0.21	0.65	.0000712	.0000592
209	4	3	2	5	0.10	0.93	0.63	1.02	0.17	0.73	.0000930	.0000630
210	4	3	2	6	0.08	0.91	0.33	1.03	0.20	0.70	.0000728	.0000264
211	4	3	3	1	0.04	1.04	0.69	2.04	0.18	0.81	.0000416	.0000276
212	4	3	3	2	0.06	1.06	0.71	1.99	0.13	0.79	.0000636	.0000426
213	4	3	3	3	0.07	1.02	0.53	2.09	0.23	0.83	.0000714	.0000371
214	4	3	3	4	0.05	1.09	0.43	2.02	0.16	0.85	.0000545	.0000215
215	4	3	3	5	0.05	1.03	0.76	2.06	0.21	0.77	.0000515	.0000380
216	4	3	3	6	0.06	1.01	1.02	2.05	0.17	0.83	.0000606	.0000612
217	5	1	1	1	0.22	0.93	0.35	1.85	0.30	0.81	.0002046	.0000770
218	5	1	1	2	0.11	0.89	0.28	1.81	0.28	0.77	.0000979	.0000308
219	5	1	1	3	0.13	0.97	0.42	1.89	0.29	0.85	.0001261	.0000546
220	5	1	1	4	0.11	0.94	0.39	1.83	0.33	0.83	.0001034	.0000429
221	5	1	1	5	0.12	0.92	0.31	1.86	0.31	0.79	.0001104	.0000372
222	5	1	1	6	0.14	0.95	0.34	1.88	0.29	0.80	.0001330	.0000476
223	5	1	2	1	0.05	1.38	0.77	0.75	0.40	0.45	.0000690	.0000385
224	5	1	2	2	0.04	1.36	0.68	0.76	0.29	0.44	.0000544	.0000272
225	5	1	2	3	0.05	1.41	0.86	0.72	0.51	0.42	.0000705	.0000430
226	5	1	2	4	0.04	1.35	0.81	0.83	0.34	0.53	.0000540	.0000324
227	5	1	2	5	0.03	1.39	0.73	0.69	0.46	0.39	.0000417	.0000219
228	5	1	2	6	0.05	1.40	0.77	0.74	0.42	0.47	.0000700	.0000385
229	5	1	3	1	0.01	1.59	1.94	1.06	0.37	0.23	.0000159	.0000194
230	5	1	3	2	0.01	1.53	1.91	1.03	0.34	0.19	.0000153	.0000191
231	5	1	3	3	0.01	1.65	1.97	1.09	0.41	0.27	.0000165	.0000197
232	5	1	3	4	0.02	1.57	1.89	1.01	0.35	0.21	.0000314	.0000378
233	5	1	3	5	0.01	1.61	1.97	1.11	0.39	0.25	.0000161	.0000197
234	5	1	3	6	0.02	1.59	1.95	1.05	0.35	0.24	.0000318	.0000390
235	5	2	1	1	0.05	0.96	0.70	1.31	0.24	0.67	.0000480	.0000350
236	5	2	1	2	0.09	0.93	0.66	1.21	0.19	0.66	.0000837	.0000594
237	5	2	1	3	0.08	0.91	0.74	1.43	0.27	0.62	.0000728	.0000592
238	5	2	1	4	0.03	1.04	0.63	1.37	0.21	0.73	.0000312	.0000189
239	5	2	1	5	0.04	0.97	0.77	1.25	0.29	0.70	.0000388	.0000308
240	5	2	1	6	0.03	0.95	0.69	1.29	0.24	0.64	.0000285	.0000207
241	5	2	2	1	0.04	1.08	1.14	0.74	0.28	0.54	.0000432	.0000456
242	5	2	2	2	0.02	1.07	1.12	0.72	0.21	0.49	.0000214	.0000224
243	5	2	2	3	0.05	1.12	1.11	0.79	0.35	0.58	.0000560	.0000555
244	5	2	2	4	0.08	1.09	1.17	0.73	0.25	0.54	.0000872	.0000936
245	5	2	2	5	0.07	0.99	1.09	0.75	0.31	0.52	.0000693	.0000763
246	5	2	2	6	0.08	1.13	1.21	0.71	0.29	0.57	.0000904	.0000968
247	5	2	3	1	0.01	1.74	4.15	1.26	0.43	2.33	.0000174	.0000415
248	5	2	3	2	0.01	1.71	4.13	1.22	0.37	2.25	.0000171	.0000413
249	5	2	3	3	0.01	1.73	4.09	1.31	0.50	2.41	.0000173	.0000409
250	5	2	3	4	0.01	1.78	4.23	1.28	0.48	2.30	.0000178	.0000423
251	5	2	3	5	0.01	1.69	4.18	1.25	0.37	2.36	.0000169	.0000418
252	5	2	3	6	0.02	1.79	4.14	1.26	0.44	2.34	.0000358	.0000828
253	5	3	1	1	0.04	1.16	0.60	2.62	0.24	0.84	.0000464	.0000240
254	5	3	1	2	0.04	1.21	0.58	2.53	0.22	0.81	.0000484	.0000232
255	5	3	1	3	0.03	1.11	0.63	2.71	0.19	0.83	.0000333	.0000189

256	5	3	1	4	0.02	1.13	0.55	2.65	0.31	0.88	.0000226	.0000110
257	5	3	1	5	0.03	1.19	0.66	2.59	0.28	0.78	.0000357	.0000198
258	5	3	1	6	0.04	1.17	0.59	2.62	0.20	0.90	.0000468	.0000236
259	5	3	2	1	0.04	0.90	0.70	0.90	0.30	0.70	.0000360	.0000280
260	5	3	2	2	0.02	0.73	0.66	0.88	0.27	0.69	.0000146	.0000132
261	5	3	2	3	0.03	1.06	0.73	0.86	0.33	0.65	.0000318	.0000219
262	5	3	2	4	0.02	0.83	0.68	0.96	0.36	0.68	.0000166	.0000136
263	5	3	2	5	0.03	0.97	0.71	0.89	0.28	0.76	.0000291	.0000213
264	5	3	2	6	0.02	0.93	0.72	0.92	0.27	0.71	.0000186	.0000144
265	5	3	3	1	0.01	1.57	0.20	0.89	0.28	0.77	.0000157	.0000020
266	5	3	3	2	0.01	1.54	0.17	0.82	0.26	0.67	.0000154	.0000017
267	5	3	3	3	0.01	1.63	0.23	0.96	0.31	0.86	.0000163	.0000023
268	5	3	3	4	0.02	1.55	0.15	0.93	0.21	0.79	.0000310	.0000030
269	5	3	3	5	0.01	1.63	0.25	0.85	0.35	0.74	.0000163	.0000025
270	5	3	3	6	0.02	1.49	0.21	0.90	0.27	0.79	.0000298	.0000042

Obs	CONTPB	CONTCD	CONTNI	PESPLAN	CONTPCU	CONTPZN	CONTPPB	CONTPCD	CONTPNI
1	.0000325	.0000338	.0001222	0.23	.00001890	.0003599	.0001100	.0000588	.0002142
2	.0000198	.0000207	.0000801	0.21	.00001180	.0002951	.0001018	.0000443	.0001853
3	.0000280	.0000290	.0000990	0.22	.00002050	.0003041	.0001222	.0000656	.0002133
4	.0000228	.0000240	.0001092	0.28	.00002370	.0003909	.0001424	.0000678	.0002559
5	.0000403	.0000416	.0001261	0.31	.00002260	.0004769	.0001762	.0000826	.0002916
6	.0000297	.0000308	.0001045	0.24	.00002120	.0003808	.0001290	.0000638	.0002248
7	.0000340	.0000125	.0000455
8	.0000504	.0000152	.0000704
9	.0000657	.0000279	.0000846
10	.0000781	.0000308	.0001012
11	.0000715	.0000242	.0000990
12	.0000483	.0000168	.0000651
13	.0000435	.0000125	.0000465
14	.0000316	.0000084	.0000348
15	.0000285	.0000087	.0000297
16	.0000415	.0000130	.0000455
17	.0000644	.0000168	.0000665
18	.0000510	.0000162	.0000552
19	.0000230	.0000250	.0000910	0.22	.00001720	.0002528	.0001046	.0000534	.0001970
20	.0000200	.0000184	.0000784	0.17	.00001330	.0002278	.0000830	.0000399	.0001578
21	.0000198	.0000234	.0000720	0.15	.00001150	.0001513	.0000624	.0000378	.0001266
22	.0000190	.0000220	.0000940	0.17	.00001270	.0001825	.0000642	.0000369	.0001521
23	.0000324	.0000324	.0001152	0.23	.00001570	.0002656	.0001030	.0000604	.0002133
24	.0000168	.0000210	.0000630	0.16	.00001350	.0001622	.0000806	.0000410	.0001443
25	.0000528	.0000184	.0000704
26	.0000260	.0000100	.0000344
27	.0000288	.0000092	.0000372
28	.0000300	.0000105	.0000415
29	.0000496	.0000208	.0000696
30	.0000490	.0000140	.0000637
31	.0000288	.0000100	.0000356
32	.0000370	.0000115	.0000450
33	.0000138	.0000052	.0000174
34	.0000152	.0000044	.0000166
35	.0000210	.0000072	.0000285
36	.0000148	.0000060	.0000176
37	.0000248	.0000224	.0000784	0.22	.00001800	.0002884	.0001452	.0000616	.0002177
38	.0000162	.0000138	.0000528	0.15	.00000770	.0001702	.0000880	.0000354	.0001332
39	.0000340	.0000330	.0001080	0.21	.00002160	.0002615	.0001382	.0000689	.0002192
40	.0000396	.0000300	.0001140	0.25	.00001800	.0003030	.0001519	.0000656	.0002496
41	.0000290	.0000310	.0001020	0.21	.00001650	.0002420	.0001247	.0000630	.0002180
42	.0000261	.0000243	.0000873	0.20	.00001725	.0002522	.0001180	.0000554	.0002046
43	.0000658	.0000217	.0000721
44	.0000430	.0000140	.0000460
45	.0000612	.0000204	.0000582
46	.0000637	.0000224	.0000798
47	.0000582	.0000180	.0000660
48	.0000475	.0000155	.0000525
49	.0000546	.0000175	.0000672
50	.0000288	.0000076	.0000344
51	.0000430	.0000155	.0000530
52	.0000486	.0000132	.0000558
53	.0000375	.0000140	.0000500
54	.0000444	.0000156	.0000648
55	.0001096	.0000152	.0000888	0.20	.0001800	.0001688	.0003724	.0000628	.0003026
56	.0001520	.0000160	.0001090	0.20	.0001818	.0001590	.0003652	.0000550	.0002872
57	.0000945	.0000126	.0000742	0.18	.0001651	.0001533	.0003165	.0000483	.0002663
58	.0000931	.0000182	.0000777	0.18	.0001628	.0001486	.0003242	.0000577	.0002718
59	.0000984	.0000120	.0000880	0.20	.0001842	.0001906	.0003772	.0000568	.0002795
60	.0001400	.0000190	.0001200	0.22	.0001996	.0001800	.0004250	.0000652	.0003186
61	.0001533	.0000406	.0001533
62	.0001284	.0000342	.0001278
63	.0001200	.0000312	.0001296
64	.0001266	.0000300	.0001266
65	.0001150	.0000350	.0001145
66	.0001440	.0000360	.0001332
67	.0001095	.0000070	.0000605
68	.0000848	.0000048	.0000504
69	.0001020	.0000045	.0000625
70	.0001045	.0000095	.0000675
71	.0001638	.0000098	.0000770
72	.0001410	.0000102	.0000654
73	.0000744	.0000192	.0000744	0.14	.0001023	.0000984	.0002654	.0000429	.0002649
74	.0000696	.0000162	.0000666	0.14	.0001032	.0001066	.0002640	.0000362	.0002646

75	.0001056	.0000296	.0001096	0.17	.0001203	.0001175	.0003099	.0000595	.0003100
76	.0001152	.0000261	.0001044	0.18	.0001328	.0001289	.0003463	.0000484	.0003361
77	.0000600	.0000175	.0000660	0.17	.0001377	.0001301	.0003895	.0000548	.0003933
78	.0000738	.0000198	.0000756	0.18	.0001476	.0001338	.0003834	.0000546	.0003828
79	.0000935	.0000165	.0000930
80	.0000700	.0000116	.0000728
81	.0001365	.0000245	.0001330
82	.0000736	.0000128	.0000712
83	.0000950	.0000170	.0000970
84	.0001134	.0000210	.0001128
85	.0000975	.0000072	.0000975
86	.0001244	.0000084	.0001252
87	.0000678	.0000054	.0000674
88	.0001575	.0000095	.0001605
89	.0002345	.0000203	.0002303
90	.0001962	.0000138	.0001944
91	.0001158	.0000372	.0001158	0.14	.0000718	.0000759	.0002564	.0000634	.0002564
92	.0001267	.0000350	.0001295	0.19	.0000941	.0000994	.0003167	.0000742	.0003204
93	.0001025	.0000360	.0000995	0.13	.0000679	.0000782	.0002380	.0000624	.0002488
94	.0001560	.0000440	.0001504	0.17	.0000904	.0000883	.0003279	.0000698	.0003157
95	.0000955	.0000345	.0000985	0.13	.0000700	.0000713	.0002279	.0000633	.0002237
96	.0001358	.0000441	.0001365	0.15	.0000831	.0000776	.0002469	.0000736	.0002468
97	.0001160	.0000145	.0001160
98	.0001505	.0000217	.0001519
99	.0001100	.0000135	.0001235
100	.0001488	.0000138	.0001416
101	.0000976	.0000140	.0000912
102	.0000696	.0000090	.0000693
103	.0000246	.0000117	.0000246
104	.0000395	.0000175	.0000390
105	.0000255	.0000129	.0000258
106	.0000231	.0000120	.0000237
107	.0000348	.0000148	.0000340
108	.0000415	.0000205	.0000410
109	.0002847	.0000247	.0000494	0.26	.0002918	.0001994	.0004286	.0000560	.0001370
110	.0001791	.0000144	.0000297	0.22	.0002488	.0001511	.0003135	.0000405	.0001126
111	.0002390	.0000220	.0000340	0.22	.0002602	.0001690	.0003734	.0000556	.0001183
112	.0002160	.0000210	.0000390	0.22	.0002434	.0001743	.0003429	.0000492	.0001128
113	.0001998	.0000153	.0000342	0.21	.0002515	.0001719	.0003418	.0000477	.0001218
114	.0001768	.0000152	.0000368	0.21	.0002533	.0001736	.0003222	.0000459	.0001240
115	.0000864	.0000208	.0000536
116	.0000824	.0000176	.0000504
117	.0001017	.0000279	.0000630
118	.0000891	.0000207	.0000549
119	.0000936	.0000232	.0000584
120	.0000770	.0000175	.0000476
121	.0000575	.0000105	.0000340
122	.0000520	.0000085	.0000325
123	.0000327	.0000057	.0000213
124	.0000378	.0000075	.0000189
125	.0000484	.0000092	.0000292
126	.0000684	.0000132	.0000396
127	.0000413	.0000154	.0000490	0.17	.0001000	.0001048	.0001096	.0000294	.0001025
128	.0000580	.0000190	.0000640	0.22	.0001155	.0001368	.0001342	.0000317	.0001209
129	.0001098	.0000378	.0001368	0.31	.0001956	.0002021	.0002029	.0000603	.0002086
130	.0000550	.0000230	.0000670	0.23	.0001325	.0001579	.0001424	.0000391	.0001299
131	.0000693	.0000275	.0000803	0.26	.0001612	.0001595	.0001710	.0000509	.0001592
132	.0000406	.0000154	.0000497	0.18	.0001078	.0001149	.0001154	.0000319	.0001079
133	.0000497	.0000098	.0000448
134	.0000462	.0000077	.0000434
135	.0000675	.0000153	.0000594
136	.0000584	.0000096	.0000504
137	.0000621	.0000144	.0000585
138	.0000504	.0000105	.0000462
139	.0000186	.0000042	.0000087
140	.0000300	.0000050	.0000135
141	.0000256	.0000072	.0000124
142	.0000290	.0000065	.0000125
143	.0000396	.0000090	.0000204
144	.0000244	.0000060	.0000120
145	.0000540	.0000270	.0001116	0.20	.0001786	.0001706	.0001453	.0000529	.0002029
146	.0000468	.0000234	.0001089	0.19	.0001380	.0001521	.0001245	.0000453	.0001871
147	.0000680	.0000340	.0001230	0.22	.0002290	.0001948	.0001700	.0000632	.0002234
148	.0000440	.0000224	.0001024	0.18	.0001650	.0001494	.0001266	.0000464	.0001890
149	.0000455	.0000224	.0000889	0.17	.0001584	.0001571	.0001335	.0000474	.0001764

150	.0000366	.0000186	.0000720	0.16	.0001454	.0001434	.0001226	.0000412	.0001576
151	.0000469	.0000147	.0000469
152	.0000462	.0000126	.0000455
153	.0000552	.0000192	.0000552
154	.0000390	.0000132	.0000426
155	.0000315	.0000100	.0000315
156	.0000420	.0000114	.0000408
157	.0000444	.0000112	.0000444
158	.0000315	.0000093	.0000327
159	.0000468	.0000100	.0000452
160	.0000436	.0000108	.0000440
161	.0000565	.0000150	.0000560
162	.0000440	.0000112	.0000448
163	.0002600	.0000400	.0004200	0.34	.0004239	.0002743	.0005168	.0000618	.0005796
164	.0001110	.0000160	.0001890	0.21	.0002563	.0001737	.0002971	.0000305	.0003042
165	.0001639	.0000264	.0002431	0.30	.0003928	.0002736	.0005250	.0000559	.0004545
166	.0001856	.0000288	.0003280	0.30	.0004044	.0002566	.0004516	.0000518	.0004506
167	.0002592	.0000396	.0003906	0.34	.0004260	.0003036	.0005607	.0000608	.0005602
168	.0002546	.0000399	.0004104	0.38	.0004907	.0003281	.0006128	.0000743	.0006047
169	.0001980	.0000176	.0001518
170	.0001288	.0000112	.0001080
171	.0002646	.0000210	.0001974
172	.0001400	.0000152	.0001088
173	.0002035	.0000132	.0001551
174	.0002418	.0000260	.0001781
175	.0000588	.0000042	.0000078
176	.0000573	.0000033	.0000072
177	.0000965	.0000085	.0000140
178	.0001260	.0000078	.0000138
179	.0000980	.0000080	.0000145
180	.0001164	.0000084	.0000162
181	.0004656	.0000336	.0001752	0.35	.0004060	.0002691	.0006110	.0000504	.0002308
182	.0002674	.0000182	.0000994	0.30	.0003196	.0002062	.0004610	.0000394	.0001790
183	.0003546	.0000288	.0001332	0.34	.0003832	.0002873	.0005656	.0000558	.0002312
184	.0002744	.0000168	.0001092	0.30	.0003224	.0002137	.0004696	.0000375	.0001971
185	.0003072	.0000256	.0001104	0.30	.0003374	.0002322	.0004896	.0000447	.0001901
186	.0002925	.0000195	.0001080	0.32	.0003525	.0002505	.0005129	.0000476	.0001965
187	.0000654	.0000078	.0000426
188	.0001030	.0000110	.0000670
189	.0001265	.0000165	.0000825
190	.0001177	.0000132	.0000759
191	.0000999	.0000126	.0000657
192	.0001070	.0000120	.0000710
193	.0000800	.0000090	.0000130
194	.0000906	.0000102	.0000126
195	.0000845	.0000105	.0000155
196	.0000775	.0000075	.0000120
197	.0000825	.0000065	.0000140
198	.0001134	.0000161	.0000175
199	.0004268	.0000308	.0001584	0.35	.0004060	.0003994	.0006065	.0000551	.0002529
200	.0003196	.0000221	.0001173	0.33	.0003802	.0003873	.0005670	.0000459	.0002257
201	.0003718	.0000330	.0001650	0.38	.0004344	.0004969	.0006171	.0000689	.0002924
202	.0003528	.0000198	.0001206	0.31	.0003507	.0003183	.0005354	.0000446	.0002151
203	.0003480	.0000340	.0001540	0.35	.0004125	.0003890	.0005530	.0000615	.0002655
204	.0004374	.0000252	.0001278	0.32	.0003530	.0002694	.0006428	.0000514	.0002336
205	.0000981	.0000171	.0000621
206	.0001280	.0000160	.0000610
207	.0000990	.0000198	.0000693
208	.0000816	.0000168	.0000520
209	.0001020	.0000170	.0000730
210	.0000824	.0000160	.0000560
211	.0000816	.0000072	.0000324
212	.0001194	.0000078	.0000474
213	.0001463	.0000161	.0000581
214	.0001010	.0000080	.0000425
215	.0001030	.0000105	.0000385
216	.0001230	.0000102	.0000498
217	.0004070	.0000660	.0001782	0.28	.0002895	.0001349	.0004551	.0000897	.0002030
218	.0001991	.0000308	.0000847	0.16	.0001676	.0000771	.0002398	.0000458	.0001042
219	.0002457	.0000377	.0001105	0.19	.0002131	.0001173	.0002926	.0000673	.0001342
220	.0002013	.0000363	.0000913	0.17	.0001888	.0001131	.0002547	.0000569	.0001167
221	.0002232	.0000372	.0000948	0.16	.0001682	.0000788	.0002550	.0000549	.0001090
222	.0002632	.0000406	.0001120	0.21	.0002348	.0001251	.0003212	.0000686	.0001403

223	.0000375	.0000200	.0000225
224	.0000304	.0000116	.0000176
225	.0000360	.0000255	.0000210
226	.0000332	.0000136	.0000212
227	.0000207	.0000138	.0000117
228	.0000370	.0000210	.0000235
229	.0000106	.0000037	.0000023
230	.0000103	.0000034	.0000019
231	.0000109	.0000041	.0000027
232	.0000202	.0000070	.0000042
233	.0000111	.0000039	.0000025
234	.0000210	.0000070	.0000048
235	.0000655	.0000120	.0000335	0.10	.0001086	.0001221	.0001077	.0000275	.0000784
236	.0001089	.0000171	.0000594	0.12	.0001222	.0001231	.0001355	.0000250	.0000917
237	.0001144	.0000216	.0000496	0.14	.0001461	.0001556	.0001670	.0000441	.0001027
238	.0000411	.0000063	.0000219	0.12	.0001362	.0001548	.0001123	.0000311	.0000881
239	.0000500	.0000116	.0000280	0.12	.0001250	.0001489	.0001150	.0000370	.0000880
240	.0000387	.0000072	.0000192	0.13	.0001547	.0002003	.0001207	.0000392	.0001116
241	.0000296	.0000112	.0000216
242	.0000144	.0000042	.0000098
243	.0000395	.0000175	.0000290
244	.0000584	.0000200	.0000432
245	.0000525	.0000217	.0000364
246	.0000568	.0000232	.0000456
247	.0000126	.0000043	.0000233
248	.0000122	.0000037	.0000225
249	.0000131	.0000050	.0000241
250	.0000128	.0000048	.0000230
251	.0000125	.0000037	.0000236
252	.0000252	.0000088	.0000468
253	.0001048	.0000096	.0000336	0.09	.0000981	.0000540	.0001497	.0000244	.0000693
254	.0001012	.0000088	.0000324	0.07	.0000784	.0000381	.0001270	.0000168	.0000529
255	.0000813	.0000057	.0000249	0.07	.0000814	.0000431	.0001167	.0000187	.0000530
256	.0000530	.0000062	.0000176	0.06	.0000702	.0000276	.0000908	.0000176	.0000470
257	.0000777	.0000084	.0000234	0.07	.0000811	.0000436	.0001129	.0000203	.0000536
258	.0001048	.0000080	.0000360	0.08	.0000952	.0000422	.0001412	.0000188	.0000660
259	.0000360	.0000120	.0000280
260	.0000176	.0000054	.0000138
261	.0000258	.0000099	.0000195
262	.0000192	.0000072	.0000136
263	.0000267	.0000084	.0000228
264	.0000184	.0000054	.0000142
265	.0000089	.0000028	.0000077
266	.0000082	.0000026	.0000067
267	.0000096	.0000031	.0000086
268	.0000186	.0000042	.0000158
269	.0000085	.0000035	.0000074
270	.0000180	.0000054	.0000158

ANALISIS DE VARIANZA DE LAS CONCENTRACIONES DE METALES EN LOS TEJIDOS DE LAS PLANTAS DE TODAS LAS ESPECIES. CON ESTE ANOVA SE PUEDE VER SI EXISTEN EFECTOS SIGNIFICATIVOS DE LAS ESPECIES, ORGANOS DE LA PLANTA Y SUELOS, ASI COMO DE LAS INTERACCIONES DE ESTOS FACTORES, SOBRE LA CONCENTRACION DE LOS METALES EN LOS TEJIDOS VEGETALES.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 25
 The ANOVA Procedure
 Class Level Information

Class	Levels	Values
ESP	5	1 2 3 4 5
SUELO	3	1 2 3
ORGAN	3	1 2 3

Number of observations 270

IDENTIFICACIÓN

E: 1L. Versicolor, 2L.leptophyllus, 3L. Montanus, 4L. Leucocephala, 5C. Ternatea

S: Sustrato1=20m, S2=50m, S3=100m

PP: 1= Raiz, 2=Tallo, 3= Hojas

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 26
 The ANOVA Procedure
 Dependent Variable: CONCCU

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	44	64.71475333	1.47078985	608.47	<.0001
Error	225	0.54387083	0.00241720		
Corrected Total	269	65.25862417			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONCCU Mean
	0.991666	5.852597	0.049165	0.840056

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	47.13466630	11.78366657	4874.92	<.0001
SUELO	2	2.77850722	1.38925361	574.74	<.0001
ORGAN	2	5.04972389	2.52486194	1044.54	<.0001
ESP*SUELO	8	3.13546593	0.39193324	162.14	<.0001
ESP*ORGAN	8	3.14255481	0.39281935	162.51	<.0001
SUELO*ORGAN	4	0.65940889	0.16485222	68.20	<.0001
ESP*SUELO*ORGAN	16	2.81442630	0.17590164	72.77	<.0001

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 27
 The ANOVA Procedure
 Dependent Variable: CONCZN

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	44	146.2972800	3.3249382	386.42	<.0001
Error	225	1.9360167	0.0086045		
Corrected Total	269	148.2332967			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONCZN Mean
	0.986939	9.034140	0.092761	1.026778

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	19.54393926	4.88598481	567.84	<.0001
SUELO	2	4.27720222	2.13860111	248.54	<.0001
ORGAN	2	44.59253556	22.29626778	2591.23	<.0001
ESP*SUELO	8	19.61061630	2.45132704	284.89	<.0001
ESP*ORGAN	8	26.35114963	3.29389370	382.81	<.0001
SUELO*ORGAN	4	10.04490222	2.51122556	291.85	<.0001
ESP*SUELO*ORGAN	16	21.87693481	1.36730843	158.91	<.0001

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 28
 The ANOVA Procedure
 Dependent Variable: CONCPB

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	44	124.2488133	2.8238367	443.25	<.0001
Error	225	1.4334167	0.0063707		
Corrected Total	269	125.6822300			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONCPB Mean
	0.988595	6.247085	0.079817	1.277667

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
--------	----	----------	-------------	---------	--------

ESP	4	58.21531704	14.55382926	2284.48	<.0001
SUELO	2	1.66386889	0.83193444	130.59	<.0001
ORGAN	2	1.79434889	0.89717444	140.83	<.0001
ESP*SUELO	8	8.80502741	1.10062843	172.76	<.0001
ESP*ORGAN	8	21.89659185	2.73707398	429.63	<.0001
SUELO*ORGAN	4	4.86337556	1.21584389	190.85	<.0001
ESP*SUELO*ORGAN	16	27.01028370	1.68814273	264.98	<.0001

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 29

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CONCCD

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	44	2.88263185	0.06551436	47.19	<.0001
Error	225	0.31236667	0.00138830		
Corrected Total	269	3.19499852			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONCCD Mean	
	0.902233	14.32663	0.037260	0.260074	
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	1.16933556	0.29233389	210.57	<.0001
SUELO	2	0.10858296	0.05429148	39.11	<.0001
ORGAN	2	0.02069852	0.01034926	7.45	<0.0007
ESP*SUELO	8	0.26950222	0.03368778	24.27	<.0001
ESP*ORGAN	8	0.29807556	0.03725944	26.84	<.0001
SUELO*ORGAN	4	0.25427704	0.06356926	45.79	<.0001
ESP*SUELO*ORGAN	16	0.76216000	0.04763500	34.31	<.0001

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 30

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CONCNI

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	44	104.8839607	2.3837264	838.95	<.0001
Error	225	0.6393000	0.0028413		
Corrected Total	269	105.5232607			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONCNI Mean	
	0.993942	5.240359	0.053304	1.017185	
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	39.68939037	9.92234759	3492.14	<.0001
SUELO	2	0.63506074	0.31753037	111.75	<.0001
ORGAN	2	0.13728074	0.06864037	24.16	<.0001
ESP*SUELO	8	14.22654296	1.77831787	625.87	<.0001
ESP*ORGAN	8	12.11625630	1.51453204	533.04	<.0001
SUELO*ORGAN	4	9.96059259	2.49014815	876.40	<.0001
ESP*SUELO*ORGAN	16	28.11883704	1.75742731	618.52	<.0001

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 31

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCCU

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	0.002417
Critical Value of Studentized Range	3.88913
Minimum Significant Difference	0.026

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	1.257593	54	5
B	1.172778	54	4
C	0.938148	54	3
D	0.746296	54	2
E	0.085463	54	1

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 32

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCZN

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	0.008605
Critical Value of Studentized Range	3.88913
Minimum Significant Difference	0.0491

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	1.48296	54	1
B	1.17241	54	5
C	0.90481	54	4
D	0.82296	54	3
E	0.75074	54	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 33

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCPB

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	0.006371
Critical Value of Studentized Range	3.88913
Minimum Significant Difference	0.0422

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	1.90833	54	2
B	1.64111	54	4
C	1.26519	54	5
D	0.96889	54	3
E	0.60481	54	1

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 34

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCCD

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	0.001388
Critical Value of Studentized Range	3.88913
Minimum Significant Difference	0.0197

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.344444	54	2
B	0.316296	54	5
C	0.260000	54	1
D	0.217222	54	3
E	0.162407	54	4

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 35

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCNI

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	0.002841
Critical Value of Studentized Range	3.88913
Minimum Significant Difference	0.0282

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	1.76963	54	2
B	0.94019	54	1
C	0.85093	54	4
D	0.81556	54	5
E	0.70963	54	3

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 36

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCCU

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	0.002417
Critical Value of Studentized Range	3.33668
Minimum Significant Difference	0.0173

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.983333	90	1
B	0.774722	90	3
B	0.762111	90	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 37

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCZN

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	0.008605
Critical Value of Studentized Range	3.33668
Minimum Significant Difference	0.0326

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	1.14000	90	2
B	1.08911	90	1
C	0.85122	90	3

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 38

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCPB

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	0.006371
Critical Value of Studentized Range	3.33668
Minimum Significant Difference	0.0281

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	1.38000	90	1
B	1.26378	90	3
C	1.18922	90	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 39

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCCD

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	0.001388
Critical Value of Studentized Range	3.33668
Minimum Significant Difference	0.0131

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.284333	90	3
B	0.260667	90	1
C	0.235222	90	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 40

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCNI

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	0.002841
Critical Value of Studentized Range	3.33668
Minimum Significant Difference	0.0187

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	1.060889	90	2
B	1.041111	90	3
C	0.949556	90	1

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 41

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCCU

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 225
Error Mean Square 0.002417
Critical Value of Studentized Range 3.33668
Minimum Significant Difference 0.0173

Means with the same letter are not significantly different.

Table with 4 columns: Tukey Grouping, Mean, N, ORGAN. Rows for groups A, B, B.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 42

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCZN

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 225
Error Mean Square 0.008605
Critical Value of Studentized Range 3.33668
Minimum Significant Difference 0.0326

Means with the same letter are not significantly different.

Table with 4 columns: Tukey Grouping, Mean, N, ORGAN. Rows for groups A, B, B.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 43

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCPB

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 225
Error Mean Square 0.006371
Critical Value of Studentized Range 3.33668
Minimum Significant Difference 0.0281

Means with the same letter are not significantly different.

Table with 4 columns: Tukey Grouping, Mean, N, ORGAN. Rows for groups A, B, C.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 44

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCCD

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 225
Error Mean Square 0.001388
Critical Value of Studentized Range 3.33668
Minimum Significant Difference 0.0131

Means with the same letter are not significantly different.

Table with 4 columns: Tukey Grouping, Mean, N, ORGAN. Rows for groups A, B A, B.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 45

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONCNI

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 225
Error Mean Square 0.002841

Critical Value of Studentized Range 3.33668
 Minimum Significant Difference 0.0187

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ORGAN
A	1.043222	90	2
B	1.020111	90	1
C	0.988222	90	3

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 46
 The ANOVA Procedure

Level of	Level of	-----CONCCU-----	-----CONCZN-----	-----CONCPB-----				
ESP	SUST	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	18	0.08444444	0.02833045	1.69111111	0.89683029	0.60111111	0.26861056
1	2	18	0.08722222	0.03268487	1.43111111	0.94984760	0.53888889	0.22640123
1	3	18	0.08472222	0.03688106	1.32666667	0.83427320	0.67444444	0.28092750
2	1	18	0.91555556	0.12486332	0.89944444	0.31009434	1.91500000	0.41569573
2	2	18	0.78500000	0.20870046	0.77888889	0.30693722	2.11944444	0.86956021
2	3	18	0.53833333	0.12509996	0.57388889	0.20038607	1.69055556	0.65812096
3	1	18	1.22833333	0.29380366	0.84444444	0.23692198	1.47500000	0.53091763
3	2	18	0.62611111	0.13213802	0.69333333	0.25314492	0.63944444	0.05945559
3	3	18	0.96000000	0.26736184	0.93111111	0.27909283	0.79222222	0.23531095
4	1	18	1.38666667	0.35305390	0.99166667	0.32633887	1.68888889	0.30615046
4	2	18	1.05222222	0.15765023	0.79944444	0.16202659	1.54388889	0.36440344
4	3	18	1.07944444	0.15614745	0.92333333	0.41467209	1.69055556	0.46520675
5	1	18	1.30166667	0.28342963	1.01888889	0.69365095	1.22000000	0.48024504
5	2	18	1.26000000	0.35536228	1.99722222	1.58036781	1.10444444	0.27034232
5	3	18	1.21111111	0.29059551	0.50111111	0.22410315	1.47111111	0.83725665

Level of	Level of	-----CONCCD-----	-----CONCNI-----			
ESP	SUST	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	18	0.25500000	0.03666221	0.92777778	0.03405110
1	2	18	0.24500000	0.02749331	0.89388889	0.04766783
1	3	18	0.28000000	0.04072866	0.99888889	0.07722305
2	1	18	0.30277778	0.20701820	1.50166667	0.50257279
2	2	18	0.29666667	0.05269223	2.11833333	0.86570780
2	3	18	0.43388889	0.15002505	1.68888889	0.65613744
3	1	18	0.22055556	0.04065236	0.57555556	0.14789592
3	2	18	0.16777778	0.04386551	0.54611111	0.18796554
3	3	18	0.26333333	0.04777398	1.00722222	0.25108718
4	1	18	0.16777778	0.03622731	1.24611111	0.77974460
4	2	18	0.14888889	0.03215567	0.56555556	0.22557697
4	3	18	0.17055556	0.03420908	0.74111111	0.06702843
5	1	18	0.35722222	0.06424270	0.49666667	0.24695796
5	2	18	0.31777778	0.09552059	1.18055556	0.84031837
5	3	18	0.27388889	0.04888629	0.76944444	0.07534019

Level of	Level of	-----CONCCU-----	-----CONCZN-----	-----CONCPB-----				
ESP	PP	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	18	0.06305556	0.02256617	1.02500000	0.23203068	0.26388889	0.04407732

Level of	Level of	-----CONCCD-----	-----CONCNI-----			
ESP	PP	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	18	0.26555556	0.03601017	0.94555556	0.06070393

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 47
 The ANOVA Procedure

Level of	Level of	-----CONCCU-----	-----CONCZN-----	-----CONCPB-----				
ESP	PP	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	2	18	0.07444444	0.01885618	0.73666667	0.15643078	0.76055556	0.13909253
1	3	18	0.11888889	0.02298053	2.68722222	0.22686626	0.79000000	0.07569288
2	1	18	0.66000000	0.17509661	0.44722222	0.13982365	1.51222222	0.31840698
2	2	18	0.64166667	0.17416186	0.77722222	0.08442230	2.12500000	0.22458458
2	3	18	0.93722222	0.18287912	1.02777778	0.28577152	2.08777778	1.02847434
3	1	18	0.71611111	0.15423965	0.66500000	0.07625422	1.12833333	0.77884719
3	2	18	0.91166667	0.35789006	0.64500000	0.16382379	0.82000000	0.19697716
3	3	18	1.18666667	0.31274872	1.15888889	0.12915512	0.95833333	0.25308101
4	1	18	1.27000000	0.03481041	0.94944444	0.37136429	1.72944444	0.34900653
4	2	18	0.95666667	0.06953628	0.73000000	0.15331628	1.32333333	0.35135034
4	3	18	1.29166667	0.40799726	1.03500000	0.33313573	1.87055556	0.20437774
5	1	18	1.01833333	0.11052016	0.54944444	0.15824301	1.92777778	0.55586240
5	2	18	1.12166667	0.21451039	0.87000000	0.20338315	0.79666667	0.08422659
5	3	18	1.63277778	0.08923238	2.09777778	1.66449623	1.07111111	0.16094898

Level of	Level of	-----CONCCD-----	-----CONCNI-----
----------	----------	------------------	------------------

ESP	PP	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	2	18	0.26277778	0.04521915	0.94277778	0.08456154
1	3	18	0.25166667	0.03148296	0.93222222	0.06734944
2	1	18	0.37611111	0.19251093	1.42777778	0.37412731
2	2	18	0.40000000	0.13852161	2.12166667	0.20884134
2	3	18	0.25722222	0.11060292	1.75944444	1.09798464
3	1	18	0.23722222	0.05355652	0.77333333	0.36631712
3	2	18	0.16666667	0.05592070	0.66166667	0.03276476
3	3	18	0.21166667	0.06354711	0.69388889	0.34511957
4	1	18	0.16055556	0.03653720	1.18111111	0.66964335
4	2	18	0.16000000	0.03464102	0.92722222	0.33160582
4	3	18	0.16666667	0.03531372	0.44444444	0.26981960
5	1	18	0.26000000	0.04458963	0.77277778	0.08400319
5	2	18	0.32888889	0.07714683	0.56277778	0.11197718
5	3	18	0.36000000	0.07638910	1.11111111	0.91766256

Level of SUST	Level of PP	Level of N	CONCCU Mean	CONCCU Std Dev	CONCZN Mean	CONCZN Std Dev	CONCPB Mean	CONCPB Std Dev
1	1	30	0.80100000	0.40002026	0.72066667	0.33544549	1.39466667	0.67492392
1	2	30	0.93066667	0.49751752	0.80966667	0.08884249	1.29933333	0.61047711

Level of SUST	Level of PP	Level of N	CONCCD Mean	CONCCD Std Dev	CONCNI Mean	CONCNI Std Dev
1	1	30	0.22866667	0.05443967	1.06766667	0.58133428
1	2	30	0.33000000	0.15772084	1.11933333	0.62705075

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 48
The ANOVA Procedure

Level of SUST	Level of PP	Level of N	CONCCU Mean	CONCCU Std Dev	CONCZN Mean	CONCZN Std Dev	CONCPB Mean	CONCPB Std Dev
1	3	30	1.21833333	0.61962772	1.73700000	0.65019970	1.44600000	0.54243131
2	1	30	0.67633333	0.41755845	0.68433333	0.17429035	1.06266667	0.60781084
2	2	30	0.67300000	0.35107863	0.73300000	0.24231854	1.01233333	0.46269587
2	3	30	0.93700000	0.52965278	2.00266667	1.28121422	1.49266667	0.96855005
3	1	30	0.75916667	0.45660683	0.77666667	0.38851915	1.47966667	0.90247737
3	2	30	0.62000000	0.33726077	0.71266667	0.12979914	1.18366667	0.59788987
3	3	30	0.94500000	0.51552283	1.06433333	0.79898506	1.12800000	0.48055571

Level of SUST	Level of PP	Level of N	CONCCD Mean	CONCCD Std Dev	CONCNI Mean	CONCNI Std Dev
1	3	30	0.22333333	0.08953263	0.66166667	0.38834826
2	1	30	0.23533333	0.06548142	0.85166667	0.22420870
2	2	30	0.22233333	0.08381767	0.92733333	0.49028446
2	3	30	0.24800000	0.10762002	1.40366667	1.21088023
3	1	30	0.31566667	0.16988197	1.14100000	0.43967347
3	2	30	0.26033333	0.05821976	1.08300000	0.64594304
3	3	30	0.27700000	0.07710942	0.89933333	0.13871164

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	CONCCU Mean	CONCCU Std Dev	CONCZN Mean	CONCZN Std Dev
1	1	1	6	0.07833333	0.02316607	1.32833333	0.07082843
1	1	2	6	0.06333333	0.01751190	0.85500000	0.05244044
1	1	3	6	0.11166667	0.02041241	2.89000000	0.07238784
1	2	1	6	0.06000000	0.01414214	0.92333333	0.04320494
1	2	2	6	0.07833333	0.01169045	0.65500000	0.04505552

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	CONCPB Mean	CONCPB Std Dev	CONCCD Mean	CONCCD Std Dev
1	1	1	6	0.25333333	0.04320494	0.26333333	0.04320494
1	1	2	6	0.68166667	0.03710346	0.24833333	0.04262237
1	1	3	6	0.86833333	0.05879342	0.25333333	0.02732520
1	2	1	6	0.23333333	0.02732520	0.25500000	0.02880972
1	2	2	6	0.65833333	0.04578937	0.23000000	0.02280351

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	CONCNI Mean	CONCNI Std Dev
1	1	1	6	0.94166667	0.03710346
1	1	2	6	0.91333333	0.02160247
1	1	3	6	0.92833333	0.04020779
1	2	1	6	0.91500000	0.06379655
1	2	2	6	0.88000000	0.03577709

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 49

The ANOVA Procedure

Level of	Level of	Level of	Level of	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
ESP	SUST	PP	N	-----CONCCU-----		-----CONCZN-----	
1	2	3	6	0.12333333	0.02732520	2.71500000	0.23097619
1	3	1	6	0.05083333	0.02289469	0.82333333	0.06742897
1	3	2	6	0.08166667	0.02316607	0.70000000	0.22803509
1	3	3	6	0.12166667	0.02316607	2.45666667	0.04844241
2	1	1	6	0.89000000	0.02529822	0.61333333	0.02160247
2	1	2	6	0.78833333	0.04750439	0.80000000	0.14142136
2	1	3	6	1.06833333	0.04355074	1.28500000	0.13412681
2	2	1	6	0.58000000	0.05656854	0.42000000	0.08671793
2	2	2	6	0.72333333	0.04966555	0.78000000	0.02828427
2	2	3	6	1.05166667	0.04578937	1.13666667	0.06186006
2	3	1	6	0.51000000	0.04732864	0.30833333	0.03656045
2	3	2	6	0.41333333	0.04501851	0.75166667	0.04490731
2	3	3	6	0.69166667	0.03188521	0.66166667	0.03710346
3	1	1	6	0.83166667	0.02857738	0.63333333	0.09157875
3	1	2	6	1.38166667	0.03710346	0.75166667	0.07413951
3	1	3	6	1.47166667	0.05671567	1.14833333	0.04833908
3	2	1	6	0.52000000	0.02607681	0.63333333	0.05278889
3	2	2	6	0.57166667	0.04622409	0.43000000	0.02607681
3	2	3	6	0.78666667	0.09244818	1.01666667	0.03777124
3	3	1	6	0.79666667	0.09709102	0.72833333	0.03710346
3	3	2	6	0.78166667	0.08886319	0.75333333	0.04320494
3	3	3	6	1.30166667	0.12432484	1.31166667	0.02316607
4	1	1	6	1.27166667	0.03430258	0.68000000	0.04147288
4	1	2	6	1.03833333	0.04535049	0.87166667	0.02316607
4	1	3	6	1.85000000	0.03847077	1.42333333	0.04885352
4	2	1	6	1.26166667	0.03430258	0.74666667	0.03141125
4	2	2	6	0.91166667	0.02857738	0.66000000	0.09919677
4	2	3	6	0.98333333	0.02160247	0.99166667	0.08612007
4	3	1	6	1.27666667	0.04033196	1.42166667	0.24927227
4	3	2	6	0.92000000	0.03898718	0.65833333	0.18280226
4	3	3	6	1.04166667	0.02926887	0.69000000	0.20366639
5	1	1	6	0.93333333	0.02732520	0.34833333	0.05115336
5	1	2	6	1.38166667	0.02316607	0.77000000	0.06228965
5	1	3	6	1.59000000	0.04000000	1.93833333	0.03250641
5	2	1	6	0.96000000	0.04472136	0.69833333	0.05115336
5	2	2	6	1.08000000	0.04979960	1.14000000	0.04381780
5	2	3	6	1.74000000	0.03898718	4.15333333	0.04760952
5	3	1	6	1.16166667	0.03710346	0.60166667	0.03868678
5	3	2	6	0.90333333	0.11413442	0.70000000	0.02607681
5	3	3	6	1.56833333	0.05455884	0.20166667	0.03710346

Level of	Level of	Level of	Level of	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
ESP	SUST	PP	N	-----CONCPB-----		-----CONCCD-----	
1	2	3	6	0.72500000	0.02664583	0.25000000	0.02828427
1	3	1	6	0.30500000	0.02664583	0.27833333	0.03710346
1	3	2	6	0.94166667	0.05419102	0.31000000	0.02000000

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 50

The ANOVA Procedure

Level of	Level of	Level of	Level of	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
ESP	SUST	PP	N	-----CONCPB-----		-----CONCCD-----	
1	3	3	6	0.77666667	0.05163978	0.25166667	0.04262237
2	1	1	6	1.36666667	0.09479803	0.18833333	0.03868678
2	1	2	6	2.19000000	0.14226735	0.57833333	0.07054549
2	1	3	6	2.18833333	0.13075422	0.14166667	0.03544949
2	2	1	6	1.23833333	0.05671567	0.32166667	0.03710346
2	2	2	6	1.86666667	0.06772493	0.33000000	0.02280351
2	2	3	6	3.25333333	0.10911767	0.23833333	0.03710346
2	3	1	6	1.93166667	0.07704977	0.61833333	0.08280499
2	3	2	6	2.31833333	0.12906071	0.29166667	0.04020779
2	3	3	6	0.82166667	0.03710346	0.39166667	0.02857738
3	1	1	6	2.19333333	0.12816656	0.19000000	0.02280351
3	1	2	6	1.08333333	0.06562520	0.26000000	0.03464102
3	1	3	6	1.14833333	0.07935154	0.21166667	0.02857738
3	2	1	6	0.59000000	0.02756810	0.22000000	0.02000000
3	2	2	6	0.71000000	0.03162278	0.14166667	0.02316607
3	2	3	6	0.61833333	0.02857738	0.14166667	0.02639444
3	3	1	6	0.60166667	0.05980524	0.30166667	0.02857738
3	3	2	6	0.66666667	0.02581989	0.20666667	0.02160247
3	3	3	6	1.10833333	0.04020779	0.28166667	0.02136976
4	1	1	6	1.30666667	0.15015547	0.20166667	0.02857738
4	1	2	6	1.79333333	0.10250203	0.16000000	0.03033150

4	1	3	6	1.9666667	0.06801961	0.14166667	0.02136976
4	2	1	6	1.94166667	0.02316607	0.14000000	0.01673320
4	2	2	6	1.08666667	0.04082483	0.12833333	0.01471960
4	2	3	6	1.60333333	0.06562520	0.17833333	0.03710346
4	3	1	6	1.94000000	0.26328692	0.14000000	0.02000000
4	3	2	6	1.09000000	0.09959920	0.19166667	0.02316607
4	3	3	6	2.04166667	0.03430258	0.18000000	0.03577709
5	1	1	6	1.85333333	0.03011091	0.30000000	0.01788854
5	1	2	6	0.74833333	0.04708149	0.40333333	0.07966597
5	1	3	6	1.05833333	0.03710346	0.36833333	0.02714160
5	2	1	6	1.31000000	0.08000000	0.24000000	0.03687818
5	2	2	6	0.74000000	0.02828427	0.28166667	0.04833908
5	2	3	6	1.26333333	0.03011091	0.43166667	0.05419102
5	3	1	6	2.62000000	0.06000000	0.24000000	0.04690416
5	3	2	6	0.90166667	0.03488075	0.30166667	0.03656045
5	3	3	6	0.89166667	0.05115336	0.28000000	0.04732864

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	Mean	Std Dev
1	2	3	6	0.88666667	0.03932768
1	3	1	6	0.98000000	0.06723095
1	3	2	6	1.03500000	0.08117881
1	3	3	6	0.98166667	0.08256311
2	1	1	6	1.11166667	0.04708149
2	1	2	6	2.18333333	0.06562520

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 51

The ANOVA Procedure

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	Mean	Std Dev
2	1	3	6	1.21000000	0.10019980
2	2	1	6	1.24333333	0.09688481
2	2	2	6	1.86333333	0.05715476
2	2	3	6	3.24833333	0.08010410
2	3	1	6	1.92833333	0.05382069
2	3	2	6	2.31833333	0.09826834
2	3	3	6	0.82000000	0.03162278
3	1	1	6	0.38000000	0.04604346
3	1	2	6	0.67000000	0.04427189
3	1	3	6	0.67666667	0.03777124
3	2	1	6	0.70166667	0.04262237
3	2	2	6	0.64333333	0.01632993
3	2	3	6	0.29333333	0.03141125
3	3	1	6	1.23833333	0.03188521
3	3	2	6	0.67166667	0.02857738
3	3	3	6	1.11166667	0.01471960
4	1	1	6	2.09666667	0.11587349
4	1	2	6	1.38000000	0.02529822
4	1	3	6	0.26166667	0.02316607
4	2	1	6	0.72833333	0.03060501
4	2	2	6	0.71000000	0.02828427
4	2	3	6	0.25833333	0.03430258
4	3	1	6	0.71833333	0.03710346
4	3	2	6	0.69166667	0.05671567
4	3	3	6	0.81333333	0.02943920
5	1	1	6	0.80833333	0.02857738
5	1	2	6	0.45000000	0.04774935
5	1	3	6	0.23166667	0.02857738
5	2	1	6	0.67000000	0.04000000
5	2	2	6	0.54000000	0.03286335
5	2	3	6	2.33166667	0.05419102
5	3	1	6	0.84000000	0.04427189
5	3	2	6	0.69833333	0.03656045
5	3	3	6	0.77000000	0.06292853

ANALISIS DE VARIANZA DE LOS CONTENIDOS DE METALES EN LOS TEJIDOS DE LAS PLANTAS DE TODAS LAS ESPECIES. CON ESTE ANOVA SE PUEDE VER SI EXISTEN EFECTOS SIGNIFICATIVOS DE LAS ESPECIES, ORGANOS DE LA PLANTA Y SUELOS, ASI COMO DE LAS INTERACCIONES DE ESTOS FACTORES, SOBRE EL CONTENIDO DE METALES EN LOS TEJIDOS VEGETALES.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 52

The ANOVA Procedure
 Class Level Information

Class	Levels	Values
ESP	5	1 2 3 4 5
SUELO	3	1 2 3
ORGAN	3	1 2 3

 Number of observations 270

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 53

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CONTCU

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	44	7.7998665E-7	1.7726969E-8	53.45	<.0001
Error	225	7.4627035E-8	3.316757E-10		
Corrected Total	269	8.5461369E-7			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONTCU Mean
0.912677	31.96421	0.000018	0.000057

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	4.2449451E-7	1.0612363E-7	319.96	<.0001
SUELO	2	2.6941552E-8	1.3470776E-8	40.61	<.0001
ORGAN	2	1.0018344E-7	5.0091722E-8	151.03	<.0001
ESP*SUELO	8	1.7640261E-8	2.2050327E-9	6.65	<.0001
ESP*ORGAN	8	1.7305681E-7	2.1632102E-8	65.22	<.0001
SUELO*ORGAN	4	3.3814896E-9	8.453724E-10	2.55	0.0402
ESP*SUELO*ORGAN	16	3.4288587E-8	2.1430367E-9	6.46	<.0001

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 54

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CONTZN

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	44	5.6769094E-7	1.2902067E-8	31.71	<.0001
Error	225	9.1558092E-8	4.069249E-10		
Corrected Total	269	6.5924903E-7			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONTZN Mean
0.861118	31.69340	0.000020	0.000064

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	1.9304732E-7	4.8261829E-8	118.60	<.0001
SUELO	2	1.0471467E-8	5.2357335E-9	12.87	<.0001
ORGAN	2	4.4433739E-8	2.2216869E-8	54.60	<.0001
ESP*SUELO	8	5.7297678E-8	7.1622098E-9	17.60	<.0001
ESP*ORGAN	8	1.5080085E-7	1.8850106E-8	46.32	<.0001
SUELO*ORGAN	4	1.0026386E-8	2.5065964E-9	6.16	<0.0001
ESP*SUELO*ORGAN	16	1.0161351E-7	6.3508442E-9	15.61	<.0001

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 55

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CONTPB

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	44	1.7137653E-6	3.8949211E-8	47.39	<.0001
Error	225	1.8492473E-7	8.218877E-10		
Corrected Total	269	1.89869E-6			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONTPB Mean
0.902604	31.55660	0.000029	0.000091

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	6.407711E-7	1.6019277E-7	194.91	<.0001
SUELO	2	4.801699E-8	2.4008495E-8	29.21	<.0001
ORGAN	2	3.0285305E-7	1.5142653E-7	184.24	<.0001
ESP*SUELO	8	7.5733166E-8	9.4666458E-9	11.52	<.0001
ESP*ORGAN	8	3.4477731E-7	4.3097164E-8	52.44	<.0001
SUELO*ORGAN	4	1.8817066E-8	4.7042666E-9	5.72	0.0002
ESP*SUELO*ORGAN	16	2.8279658E-7	1.7674786E-8	21.51	<.0001

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 56

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CONTCU

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	44	2.1550241E-8	4.897782E-10	19.84	<.0001
Error	225	5.5548683E-9	2.46883E-11		
Corrected Total	269	2.710511E-8			

R-Square Coeff Var Root MSE CONTCD Mean
 0.795062 29.63262 4.96873E-6 0.000017

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	1.4206343E-9	3.551586E-10	14.39	<.0001
SUELO	2	1.1450082E-9	5.725041E-10	23.19	<.0001
ORGAN	2	1.0779363E-8	5.3896813E-9	218.31	<.0001
ESP*SUELO	8	1.8443233E-9	2.305404E-10	9.34	<.0001
ESP*ORGAN	8	4.729155E-10	5.911444E-11	2.39	0.0170
SUELO*ORGAN	4	9.868211E-10	2.467053E-10	9.99	<.0001
ESP*SUELO*ORGAN	16	4.9011763E-9	3.063235E-10	12.41	<.0001

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 57

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CONTNI

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	44	8.4853397E-7	1.9284863E-8	35.09	<.0001
Error	225	1.236624E-7	5.496107E-10		
Corrected Total	269	9.7219637E-7			

R-Square Coeff Var Root MSE CONTNI Mean
 0.872801 33.36172 0.000023 0.000070

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	2.0966717E-7	5.2416793E-8	95.37	<.0001
SUELO	2	2.7443841E-8	1.3721921E-8	24.97	<.0001
ORGAN	2	1.9796758E-7	9.8983791E-8	180.10	<.0001
ESP*SUELO	8	8.7950013E-8	1.0993752E-8	20.00	<.0001
ESP*ORGAN	8	1.4908717E-7	1.8635896E-8	33.91	<.0001
SUELO*ORGAN	4	3.8915897E-8	9.7289743E-9	17.70	<.0001
ESP*SUELO*ORGAN	16	1.3750229E-7	8.5938934E-9	15.64	<.0001

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 58

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTCU

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 225
 Error Mean Square 3.32E-10
 Critical Value of Studentized Range 3.88913
 Minimum Significant Difference 964E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.00012689	54	4
B	0.00006252	54	3
C	0.00004739	54	5
C	0.00004249	54	2
D	0.00000559	54	1

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 59

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTZN

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 225
 Error Mean Square 4.07E-10
 Critical Value of Studentized Range 3.88913
 Minimum Significant Difference 107E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.00009869	54	4
A	0.00009199	54	1
B	0.00005338	54	3
C	0.00004086	54	2
C	0.00003333	54	5

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 60

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPB

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

II error rate than REGWQ.
 Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 225
 Error Mean Square 8.22E-10
 Critical Value of Studentized Range 3.88913
 Minimum Significant Difference 152E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.00017769	54	4
B	0.00010653	54	2
C	0.00007075	54	3
C	0.00006139	54	5
D	0.00003788	54	1

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 61

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTCD

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 225
 Error Mean Square 2.47E-11
 Critical Value of Studentized Range 3.88913
 Minimum Significant Difference 263E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.00001942	54	2
A	0.00001856	54	1
B A	0.00001737	54	4
B C	0.00001546	54	3
C	0.00001303	54	5

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 62

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTNI

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 225
 Error Mean Square 5.5E-10
 Critical Value of Studentized Range 3.88913
 Minimum Significant Difference 124E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.00010488	54	4
A	0.00009795	54	2
B	0.00006701	54	1
C	0.00004985	54	3
D	0.00003166	54	5

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 63

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTCU

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 225
 Error Mean Square 3.32E-10
 Critical Value of Studentized Range 3.33668
 Minimum Significant Difference 641E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.00007108	90	1
B	0.00005060	90	2
B	0.00004924	90	3

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 64

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTZN

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 225
 Error Mean Square 4.07E-10
 Critical Value of Studentized Range 3.33668
 Minimum Significant Difference 709E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.00007226	90	1
B	0.00006094	90	3
B	0.00005775	90	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 65

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPB

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 225
 Error Mean Square 8.22E-10
 Critical Value of Studentized Range 3.33668
 Minimum Significant Difference 101E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.00010963	90	1
B	0.00008292	90	3
B	0.00008000	90	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 66

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTCD

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 225
 Error Mean Square 2.47E-11
 Critical Value of Studentized Range 3.33668
 Minimum Significant Difference 175E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.00001935	90	1
B	0.00001663	90	3
C	0.00001432	90	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 67

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTNI

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 225
 Error Mean Square 5.5E-10
 Critical Value of Studentized Range 3.33668
 Minimum Significant Difference 825E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.00008443	90	1
B	0.00006464	90	3
B	0.00006174	90	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 68

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTCU

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 225
 Error Mean Square 3.32E-10
 Critical Value of Studentized Range 3.33668
 Minimum Significant Difference 641E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ORGAN
----------------	------	---	-------

A	0.00008311	90	1
B	0.00005056	90	2
C	0.00003725	90	3

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 69

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTZN

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	4.07E-10
Critical Value of Studentized Range	3.33668
Minimum Significant Difference	709E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ORGAN
A	0.00008110	90	1
B	0.00005921	90	3
C	0.00005063	90	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 70

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPB

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	8.22E-10
Critical Value of Studentized Range	3.33668
Minimum Significant Difference	101E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ORGAN
A	0.00013655	90	1
B	0.00007875	90	2
C	0.00005724	90	3

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 71

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTCD

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	2.47E-11
Critical Value of Studentized Range	3.33668
Minimum Significant Difference	175E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ORGAN
A	0.00002441	90	1
B	0.00001697	90	2
C	0.00000893	90	3

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 72

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTNI

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	225
Error Mean Square	5.5E-10
Critical Value of Studentized Range	3.33668
Minimum Significant Difference	825E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ORGAN
A	0.00010410	90	1
B	0.00006890	90	2
C	0.00003782	90	3

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 73

The ANOVA Procedure

Level of Level of -----CONTCU----- -----CONTZN----- -----CONTPB-----

ESP	SUST	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	18	0.00000659	0.00000270	0.00012265	0.00004641	0.00004342	0.00001724
1	2	18	0.00000466	0.00000167	0.00006901	0.00003035	0.00002766	0.00001232
1	3	18	0.00000550	0.00000213	0.00008429	0.00004369	0.00004256	0.00001445
2	1	18	0.00005964	0.00001556	0.00005557	0.00001271	0.00012114	0.00002357
2	2	18	0.00004133	0.00001430	0.00003974	0.00001588	0.00010881	0.00004740
2	3	18	0.00002652	0.00000792	0.00002726	0.00000979	0.00008966	0.00004739
3	1	18	0.00008606	0.00002493	0.00005774	0.00001298	0.00011791	0.00007692
3	2	18	0.00004514	0.00001681	0.00004867	0.00002108	0.00004864	0.00002155
3	3	18	0.00005636	0.00001466	0.00005374	0.00001050	0.00004569	0.00000886
4	1	18	0.00013301	0.00006125	0.00008944	0.00002930	0.00016467	0.00007093
4	2	18	0.00011784	0.00007609	0.00008106	0.00003820	0.00017276	0.00012020
4	3	18	0.00012982	0.00008964	0.00012557	0.00011847	0.00019566	0.00013466
5	1	18	0.00007011	0.00005128	0.00003591	0.00001474	0.00010102	0.00012112
5	2	18	0.00004404	0.00002635	0.00005027	0.00002379	0.00004212	0.00003111
5	3	18	0.00002802	0.00001163	0.00001381	0.00000919	0.00004102	0.00003602

Level of	Level of	Level of	-----CONTCD-----		-----CONTNI-----	
ESP	SUST	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	18	0.00002127	0.00000946	0.00007695	0.00003026
1	2	18	0.00001497	0.00000798	0.00005506	0.00002896
1	3	18	0.00001944	0.00000685	0.00006902	0.00002221
2	1	18	0.00001921	0.00001197	0.00009589	0.00003099
2	2	18	0.00001647	0.00000665	0.00010843	0.00004633
2	3	18	0.00002259	0.00001215	0.00008954	0.00004719
3	1	18	0.00001638	0.00000642	0.00004036	0.00001264
3	2	18	0.00001352	0.00000879	0.00004606	0.00003170
3	3	18	0.00001647	0.00000698	0.00006313	0.00002992
4	1	18	0.00001862	0.00001227	0.00016410	0.00014498
4	2	18	0.00001530	0.00000758	0.00006804	0.00004863
4	3	18	0.00001819	0.00000830	0.00008251	0.00004480
5	1	18	0.00002129	0.00001728	0.00004486	0.00005272
5	2	18	0.00001133	0.00000707	0.00003114	0.00001299
5	3	18	0.00000648	0.00000272	0.00001899	0.00000925

Level of	Level of	Level of	-----CONTCU-----		-----CONTZN-----		-----CONTPB-----	
ESP	PP	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	18	0.00000644	0.00000289	0.00010401	0.00003879	0.00002632	0.00000738

Level of	Level of	Level of	-----CONTCD-----		-----CONTNI-----	
ESP	ORGAN	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	18	0.00002648	0.00000671	0.00009429	0.00002055

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 74
The ANOVA Procedure

Level of	Level of	Level of	-----CONTCU-----		-----CONTZN-----		-----CONTPB-----	
ESP	PP	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	2	18	0.00000500	0.00000164	0.00005168	0.00002226	0.00005131	0.00001504
1	3	18	0.00000532	0.00000209	0.00012027	0.00004337	0.00003600	0.00001440
2	1	18	0.00004847	0.00002132	0.00003293	0.00001549	0.00010658	0.00002790
2	2	18	0.00003522	0.00001325	0.00004174	0.00000934	0.00011454	0.00002712
2	3	18	0.00004380	0.00001913	0.00004790	0.00002211	0.00009847	0.00006270
3	1	18	0.00006743	0.00002096	0.00006276	0.00001773	0.00010913	0.00008239
3	2	18	0.00006968	0.00003315	0.00004818	0.00001419	0.00006252	0.00002101
3	3	18	0.00005044	0.00001711	0.00004921	0.00001053	0.00004060	0.00001317
4	1	18	0.00022036	0.00004831	0.00017056	0.00009039	0.00030291	0.00009403
4	2	18	0.00009437	0.00002447	0.00007246	0.00002477	0.00013263	0.00005662
4	3	18	0.00006594	0.00002185	0.00005306	0.00001878	0.00009754	0.00002363
5	1	18	0.00007287	0.00004840	0.00003526	0.00001800	0.00013783	0.00009879
5	2	18	0.00004854	0.00002408	0.00003912	0.00002594	0.00003276	0.00001314
5	3	18	0.00002077	0.00000726	0.00002561	0.00002196	0.00001357	0.00000490

Level of	Level of	Level of	-----CONTCD-----		-----CONTNI-----	
ESP	PP	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	2	18	0.00001791	0.00000605	0.00006429	0.00001940
1	3	18	0.00001129	0.00000423	0.00004245	0.00001658
2	1	18	0.00002512	0.00001080	0.00009914	0.00002489
2	2	18	0.00002205	0.00000998	0.00011435	0.00002650
2	3	18	0.00001110	0.00000486	0.00008037	0.00005995
3	1	18	0.00002214	0.00000649	0.00007093	0.00003396
3	2	18	0.00001534	0.00000545	0.00004962	0.00000791
3	3	18	0.00000889	0.00000288	0.00002901	0.00001453
4	1	18	0.00002767	0.00000795	0.00019776	0.00011131
4	2	18	0.00001556	0.00000421	0.00009318	0.00004651
4	3	18	0.00000888	0.00000326	0.00002371	0.00001628

5	1	18	0.00002062	0.00001703	0.00005839	0.00004428
5	2	18	0.00001398	0.00000671	0.00002306	0.00001018
5	3	18	0.00000450	0.00000163	0.00001354	0.00001189

Level of SUST	Level of PP	Level of N	-----CONT	-----CU-----	-----CONT	-----ZN-----	-----CONT	-----PB-----
			Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	30	0.00009865	0.00007041	0.00008381	0.00004414	0.00016433	0.00009536
1	2	30	0.00006776	0.00004434	0.00006203	0.00002569	0.00010123	0.00006366

Level of SUST	Level of PP	Level of N	-----CONT	-----CD-----	-----CONT	-----NI-----
			Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	30	0.00002749	0.00001217	0.00013582	0.00011131
1	2	30	0.00002239	0.00000810	0.00008651	0.00005226

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 75
The ANOVA Procedure

Level of SUST	Level of PP	Level of N	-----CONT	-----CU-----	-----CONT	-----ZN-----	-----CONT	-----PB-----
			Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	3	30	0.00004683	0.00003323	0.00007095	0.00004598	0.00006333	0.00004193
2	1	30	0.00007255	0.00007757	0.00006894	0.00004131	0.00011280	0.00011685
2	2	30	0.00004704	0.00003106	0.00004835	0.00002057	0.00006744	0.00003236
2	3	30	0.00003222	0.00002142	0.00005596	0.00002201	0.00005975	0.00005807
3	1	30	0.00007814	0.00009060	0.00009056	0.00010259	0.00013254	0.00013028
3	2	30	0.00003688	0.00002917	0.00004153	0.00001835	0.00006758	0.00003820
3	3	30	0.00003271	0.00002100	0.00005072	0.00004792	0.00004863	0.00003628

Level of SUST	Level of PP	Level of N	-----CONT	-----CD-----	-----CONT	-----NI-----
			Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	3	30	0.00000818	0.00000359	0.00003096	0.00002377
2	1	30	0.00002090	0.00000732	0.00008013	0.00003594
2	2	30	0.00001415	0.00000507	0.00005965	0.00002668
2	3	30	0.00000790	0.00000380	0.00004545	0.00005771
3	1	30	0.00002482	0.00001112	0.00009635	0.00004267
3	2	30	0.00001435	0.00000469	0.00006053	0.00003563
3	3	30	0.00001072	0.00000482	0.00003704	0.00001732

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	-----CONT	-----CU-----	-----CONT	-----ZN-----
				Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	1	6	0.00000887	0.00000288	0.00015063	0.00002303
1	1	2	6	0.00000533	0.00000187	0.00007253	0.00002011
1	1	3	6	0.00000558	0.00000192	0.00014478	0.00004300
1	2	1	6	0.00000552	0.00000116	0.00008655	0.00001919
1	2	2	6	0.00000477	0.00000180	0.00003968	0.00001398

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	-----CONT	-----PB-----	-----CONT	-----CD-----
				Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	1	6	0.00002885	0.00000727	0.00002998	0.00000739
1	1	2	6	0.00005800	0.00001657	0.00002123	0.00000744
1	1	3	6	0.00004342	0.00001314	0.00001260	0.00000357
1	2	1	6	0.00002183	0.00000555	0.00002370	0.00000481
1	2	2	6	0.00003937	0.00001230	0.00001382	0.00000483

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	-----CONT	-----NI-----
				Mean	Std Dev
1	1	1	6	0.00010685	0.00001670
1	1	2	6	0.00007763	0.00002146
1	1	3	6	0.00004637	0.00001338
1	2	1	6	0.00008560	0.00001857
1	2	2	6	0.00005280	0.00001685

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 76
The ANOVA Procedure

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	-----CONT	-----CU-----	-----CONT	-----ZN-----
				Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	2	3	6	0.00000370	0.00000171	0.00008080	0.00003162
1	3	1	6	0.00000492	0.00000283	0.00007483	0.00001489
1	3	2	6	0.00000490	0.00000148	0.00004283	0.00001724
1	3	3	6	0.00000668	0.00000166	0.00013522	0.00002626
2	1	1	6	0.00007427	0.00001313	0.00005113	0.00000870
2	1	2	6	0.00004738	0.00000636	0.00004767	0.00000753
2	1	3	6	0.00005727	0.00001289	0.00006792	0.00001166
2	2	1	6	0.00003893	0.00001038	0.00002827	0.00000915
2	2	2	6	0.00003737	0.00000865	0.00004037	0.00000952
2	2	3	6	0.00004768	0.00002094	0.00005058	0.00001957
2	3	1	6	0.00003220	0.00000638	0.00001940	0.00000369

2	3	2	6	0.00002090	0.00000728	0.00003718	0.00000893
2	3	3	6	0.00002645	0.00000653	0.00002520	0.00000590
3	1	1	6	0.00008172	0.00001417	0.00006228	0.00001397
3	1	2	6	0.00011285	0.00001109	0.00006148	0.00000937
3	1	3	6	0.00006360	0.00001731	0.00004945	0.00001287
3	2	1	6	0.00005515	0.00002394	0.00006652	0.00002676
3	2	2	6	0.00004503	0.00000861	0.00003385	0.00000603
3	2	3	6	0.00003525	0.00000873	0.00004563	0.00001011
3	3	1	6	0.00006543	0.00001701	0.00005948	0.00001130
3	3	2	6	0.00005117	0.00001271	0.00004920	0.00001001
3	3	3	6	0.00005247	0.00001141	0.00005255	0.00000898
4	1	1	6	0.00019915	0.00005346	0.00010663	0.00003005
4	1	2	6	0.00011332	0.00003031	0.00009487	0.00002387
4	1	3	6	0.00008655	0.00002599	0.00006682	0.00002103
4	2	1	6	0.00021265	0.00004953	0.00012602	0.00003053
4	2	2	6	0.00008678	0.00001841	0.00006280	0.00001676
4	2	3	6	0.00005408	0.00000840	0.00005435	0.00000817
4	3	1	6	0.00024927	0.00003181	0.00027902	0.00006739
4	3	2	6	0.00008300	0.00001108	0.00005970	0.00001804
4	3	3	6	0.00005720	0.00001037	0.00003800	0.00001372
5	1	1	6	0.00012923	0.00003926	0.00004835	0.00001626
5	1	2	6	0.00005993	0.00001178	0.00003358	0.00000795
5	1	3	6	0.00002117	0.00000809	0.00002578	0.00000978
5	2	1	6	0.00005050	0.00002280	0.00003733	0.00001805
5	2	2	6	0.00006125	0.00002657	0.00006503	0.00002911
5	2	3	6	0.00002038	0.00000756	0.00004843	0.00001684
5	3	1	6	0.00003887	0.00001016	0.00002008	0.00000493
5	3	2	6	0.00002445	0.00000897	0.00001873	0.00000597
5	3	3	6	0.00002075	0.00000749	0.00000262	0.00000089

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	-----CONTPB-----	-----CONTPB-----	-----CONTC-----	-----CONTC-----
				Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	2	3	6	0.00002177	0.00000935	0.00000738	0.00000281
1	3	1	6	0.00002828	0.00000805	0.00002575	0.00000713
1	3	2	6	0.00005657	0.00000924	0.00001867	0.00000342

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 77
The ANOVA Procedure

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	-----CONTPB-----	-----CONTPB-----	-----CONTC-----	-----CONTC-----
				Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	3	3	6	0.00004282	0.00000894	0.00001390	0.00000342
2	1	1	6	0.00011460	0.00002529	0.00001550	0.00000285
2	1	2	6	0.00013122	0.00001462	0.00003450	0.00000377
2	1	3	6	0.00011760	0.00002912	0.00000763	0.00000257
2	2	1	6	0.00008310	0.00002198	0.00002140	0.00000527
2	2	2	6	0.00009700	0.00002499	0.00001723	0.00000488
2	2	3	6	0.00014632	0.00006232	0.00001077	0.00000546
2	3	1	6	0.00012205	0.00002231	0.00003847	0.00000442
2	3	2	6	0.00011542	0.00003096	0.00001442	0.00000409
2	3	3	6	0.00003150	0.00000811	0.00001490	0.00000349
3	1	1	6	0.00021590	0.00004101	0.00001877	0.00000435
3	1	2	6	0.00008837	0.00000865	0.00002128	0.00000390
3	1	3	6	0.00004947	0.00001302	0.00000910	0.00000258
3	2	1	6	0.00006233	0.00002565	0.00002302	0.00000861
3	2	2	6	0.00005572	0.00000827	0.00001122	0.00000298
3	2	3	6	0.00002787	0.00000702	0.00000632	0.00000169
3	3	1	6	0.00004915	0.00001079	0.00002463	0.00000531
3	3	2	6	0.00004347	0.00000803	0.00001352	0.00000321
3	3	3	6	0.00004447	0.00000799	0.00001125	0.00000198
4	1	1	6	0.00020572	0.00006216	0.00003178	0.00000981
4	1	2	6	0.00019612	0.00005388	0.00001737	0.00000544
4	1	3	6	0.00009217	0.00002868	0.00000670	0.00000232
4	2	1	6	0.00032695	0.00007466	0.00002375	0.00000668
4	2	2	6	0.00010325	0.00002101	0.00001218	0.00000285
4	2	3	6	0.00008808	0.00001318	0.00000997	0.00000338
4	3	1	6	0.00037607	0.00004663	0.00002748	0.00000595
4	3	2	6	0.00009852	0.00001690	0.00001712	0.00000140
4	3	3	6	0.00011238	0.00002226	0.00000997	0.00000329
5	1	1	6	0.00025658	0.00007780	0.00004143	0.00001245
5	1	2	6	0.00003247	0.00000635	0.00001758	0.00000541
5	1	3	6	0.00001402	0.00000511	0.00000485	0.00000168
5	2	1	6	0.00006977	0.00003382	0.00001263	0.00000586
5	2	2	6	0.00004187	0.00001744	0.00001630	0.00000727
5	2	3	6	0.00001473	0.00000514	0.00000505	0.00000191
5	3	1	6	0.00008713	0.00002054	0.00000778	0.00000152

5	3	2	6	0.00002395	0.00000707	0.00000805	0.00000260
5	3	3	6	0.00001197	0.00000493	0.00000360	0.00000105
Level of Level of Level of -----CONTNI-----							
ESP	SUST	PP	N	Mean	Std Dev		
1	2	3	6	0.00002678	0.00001174		
1	3	1	6	0.00009042	0.00002267		
1	3	2	6	0.00006243	0.00001260		
1	3	3	6	0.00005420	0.00001179		
2	1	1	6	0.00009295	0.00001797		
2	1	2	6	0.00013083	0.00001269		

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 78
The ANOVA Procedure

Level of Level of Level of -----CONTNI-----							
ESP	SUST	PP	N	Mean	Std Dev		
2	1	3	6	0.00006388	0.00000875		
2	2	1	6	0.00008277	0.00001925		
2	2	2	6	0.00009663	0.00002372		
2	2	3	6	0.00014588	0.00006103		
2	3	1	6	0.00012170	0.00002083		
2	3	2	6	0.00011558	0.00003097		
2	3	3	6	0.00003135	0.00000766		
3	1	1	6	0.00003718	0.00000675		
3	1	2	6	0.00005465	0.00000553		
3	1	3	6	0.00002925	0.00000788		
3	2	1	6	0.00007447	0.00003270		
3	2	2	6	0.00005045	0.00000699		
3	2	3	6	0.00001325	0.00000387		
3	3	1	6	0.00010113	0.00001816		
3	3	2	6	0.00004375	0.00000780		
3	3	3	6	0.00004452	0.00000738		
4	1	1	6	0.00033018	0.00009558		
4	1	2	6	0.00014987	0.00003613		
4	1	3	6	0.00001225	0.00000378		
4	2	1	6	0.00012257	0.00002814		
4	2	2	6	0.00006745	0.00001365		
4	2	3	6	0.00001410	0.00000207		
4	3	1	6	0.00014052	0.00002097		
4	3	2	6	0.00006223	0.00000789		
4	3	3	6	0.00004478	0.00000903		
5	1	1	6	0.00011192	0.00003422		
5	1	2	6	0.00001958	0.00000435		
5	1	3	6	0.00000307	0.00000116		
5	2	1	6	0.00003527	0.00001600		
5	2	2	6	0.00003093	0.00001366		
5	2	3	6	0.00002722	0.00000961		
5	3	1	6	0.00002798	0.00000712		
5	3	2	6	0.00001865	0.00000590		
5	3	3	6	0.00001033	0.00000428		

ANALISIS DE VARIANZA DE LOS CONTENIDOS DE METALES EN LAS PLANTAS COMPLETAS (NO POR ORGANO) DE TODAS LAS ESPECIES. CON ESTE ANOVA SE PUEDE VER SI EXISTEN EFECTOS SIGNIFICATIVOS DE LAS ESPECIES Y DE LOS SUELOS, ASI COMO DE LAS INTERACCIONES DE ESTOS FACTORES, SOBRE EL CONTENIDO DE METALES EN LAS PLANTAS COMPLETAS (EN TODA LA PLANTA).
* EN ESTE CASO, IGNORAR CUALQUIER DATO RELACIONADO CON EL ORGANO DE LA PLANTA

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 79

The GLM Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
ESP	5	1 2 3 4 5
SUELO	3	1 2 3
ORGAN	3	1 2 3

Number of observations 270

NOTE: All dependent variables are consistent with respect to the presence or absence of missing values. However only 90 observations can be used in this analysis.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 80

The GLM Procedure

Dependent Variable: PESPLAN = PESO DE LA PLANTA COMPLETA (RAIZ+TALLO+HOJA)

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	14	0.44811556	0.03200825	31.51	<.0001
Error	75	0.07618333	0.00101578		
Corrected Total	89	0.52429889			

R-Square Coeff Var Root MSE PESPLAN Mean

0.854695 15.18483 0.031871 0.209889

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	0.37468222	0.09367056	92.22	<.0001
SUELO	2	0.03030222	0.01515111	14.92	<.0001
ORGAN	0	0.00000000	.	.	.
ESP*SUELO	8	0.04313111	0.00539139	5.31	<.0001
ESP*ORGAN	0	0.00000000	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0.00000000	.	.	.
ESP*SUELO*ORGAN	0	0.00000000	.	.	.

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	0.37468222	0.09367056	92.22	<.0001
SUELO	2	0.03030222	0.01515111	14.92	<.0001
ORGAN	0	0.00000000	.	.	.
ESP*SUELO	8	0.04313111	0.00539139	5.31	<.0001
ESP*ORGAN	0	0.00000000	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0.00000000	.	.	.
ESP*SUELO*ORGAN	0	0.00000000	.	.	.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 81

The GLM Procedure

Dependent Variable: CONTPCU = CONTENIDO DE CU EN LA PLANTA COMPLETA (RAIZ+TALLO+HOJAS)

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	14	1.407229E-6	1.0051635E-7	104.81	<.0001
Error	75	7.193081E-8	9.590775E-10		
Corrected Total	89	1.4791598E-6			

R-Square Coeff Var Root MSE CONTPCU Mean
0.951370 18.11811 0.000031 0.000171

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	1.2734835E-6	3.1837088E-7	331.96	<.0001
SUELO	2	8.0824657E-8	4.0412329E-8	42.14	<.0001
ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO	8	5.2920784E-8	6.615098E-9	6.90	<.0001
ESP*ORGAN	0	0	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO*ORG	0	0	.	.	.

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	1.2734835E-6	3.1837088E-7	331.96	<.0001
SUELO	2	8.0824657E-8	4.0412329E-8	42.14	<.0001
ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO	8	5.2920784E-8	6.615098E-9	6.90	<.0001
ESP*ORGAN	0	0	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 82

The GLM Procedure

Dependent Variable: CONTPZN = CONTENIDO DE ZN EN LA PLANTA COMPLETA Y ASI SUCESIVAMENTE...

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	14	7.8244939E-7	5.5889242E-8	37.07	<.0001
Error	75	1.1308347E-7	1.5077797E-9		
Corrected Total	89	8.9553286E-7			

R-Square Coeff Var Root MSE CONTPZN Mean
0.873725 20.33571 0.000039 0.000191

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	5.7914195E-7	1.4478549E-7	96.03	<.0001
SUELO	2	3.1414401E-8	1.57072E-8	10.42	0.0001
ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO	8	1.7189303E-7	2.1486629E-8	14.25	<.0001
ESP*ORGAN	0	0	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	5.7914195E-7	1.4478549E-7	96.03	<.0001
SUELO	2	3.1414401E-8	1.57072E-8	10.42	0.0001
ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO	8	1.7189303E-7	2.1486629E-8	14.25	<.0001
ESP*ORGAN	0	0	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.

ESP*SUELO*ORGAN 0 0 . . .

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 83

The GLM Procedure

Dependent Variable: CONTPPB

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	14	2.2935638E-6	1.6382598E-7	68.08	<.0001
Error	75	1.8047294E-7	2.4063059E-9		
Corrected Total	89	2.4740367E-6			
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONTPPB Mean	
	0.927053	17.99857	0.000049	0.000273	

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	1.9223133E-6	4.8057832E-7	199.72	<.0001
SUELO	2	1.4405097E-7	7.2025485E-8	29.93	<.0001
ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO	8	2.271995E-7	2.8399937E-8	11.80	<.0001
ESP*ORGAN	0	0	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	1.9223133E-6	4.8057832E-7	199.72	<.0001
SUELO	2	1.4405097E-7	7.2025485E-8	29.93	<.0001
ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO	8	2.271995E-7	2.8399937E-8	11.80	<.0001
ESP*ORGAN	0	0	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 84

The GLM Procedure

Dependent Variable: CONTPCD

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	14	1.3229897E-8	9.449927E-10	9.94	<.0001
Error	75	7.1270317E-9	9.502709E-11		
Corrected Total	89	2.0356929E-8			
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONTPCD Mean	
	0.649897	19.37880	9.74818E-6	0.000050	

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	4.2619029E-9	1.0654757E-9	11.21	<.0001
SUELO	2	3.4350247E-9	1.7175123E-9	18.07	<.0001
ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO	8	5.5329698E-9	6.916212E-10	7.28	<.0001
ESP*ORGAN	0	0	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	4.2619029E-9	1.0654757E-9	11.21	<.0001
SUELO	2	3.4350247E-9	1.7175123E-9	18.07	<.0001
ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO	8	5.5329698E-9	6.916212E-10	7.28	<.0001
ESP*ORGAN	0	0	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 85

The GLM Procedure

Dependent Variable: CONTPNI

Source	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	14	9.7518308E-7	6.9655934E-8	38.95	<.0001
Error	75	1.3411187E-7	1.7881583E-9		
Corrected Total	89	1.109295E-6			
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONTPNI Mean	
	0.879102	20.05869	0.000042	0.000211	

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	6.2900152E-7	1.5725038E-7	87.94	<.0001
SUELO	2	8.2331524E-8	4.1165762E-8	23.02	<.0001
ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO	8	2.6385004E-7	3.2981255E-8	18.44	<.0001
ESP*ORGAN	0	0	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.

ESP*SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ESP	4	6.2900152E-7	1.5725038E-7	87.94	<.0001
SUELO	2	8.2331524E-8	4.1165762E-8	23.02	<.0001
ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO	8	2.6385004E-7	3.2981255E-8	18.44	<.0001
ESP*ORGAN	0	0	.	.	.
SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.
ESP*SUELO*ORGAN	0	0	.	.	.

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 86

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PESPLAN

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 75
 Error Mean Square 0.001016
 Critical Value of Studentized Range 3.95308
 Minimum Significant Difference 0.0297

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.32333	18	4
B	0.21278	18	1
B	0.21278	18	3
C	0.17056	18	2
D	0.13000	18	5

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 87

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPCU

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 75
 Error Mean Square 9.59E-10
 Critical Value of Studentized Range 3.95308
 Minimum Significant Difference 289E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.00038067	18	4
B	0.00018756	18	3
C	0.00014218	18	5
C	0.00012748	18	2
D	0.00001676	18	1

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 88

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPZN

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 75
 Error Mean Square 1.508E-9
 Critical Value of Studentized Range 3.95308
 Minimum Significant Difference 362E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.00029607	18	4
A	0.00027596	18	1
B	0.00016015	18	3
C	0.00012257	18	2
C	0.00009998	18	5

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 89

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPPB

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 75

Error Mean Square 2.406E-9
Critical Value of Studentized Range 3.95308
Minimum Significant Difference 457E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.00053308	18	4
B	0.00031960	18	2
C	0.00021224	18	3
C	0.00018416	18	5
D	0.00011363	18	1

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 90

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPCD

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 75
Error Mean Square 9.5E-11
Critical Value of Studentized Range 3.95308
Minimum Significant Difference 908E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.00005827	18	2
A			
A	0.00005568	18	1
B A	0.00005211	18	4
B C	0.00004637	18	3
C	0.00003909	18	5

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 91

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPNI

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 75
Error Mean Square 1.788E-9
Critical Value of Studentized Range 3.95308
Minimum Significant Difference 394E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	ESP
A	0.00031465	18	4
A	0.00029386	18	2
B	0.00020103	18	1
C	0.00014955	18	3
D	0.00009498	18	5

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 92

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for PESPLAN

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 75
Error Mean Square 0.001016
Critical Value of Studentized Range 3.38156
Minimum Significant Difference 0.0197

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.235000	30	1
B	0.203000	30	2
B	0.191667	30	3

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 93

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPCU

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 75

Error Mean Square 9.59E-10
Critical Value of Studentized Range 3.38156
Minimum Significant Difference 191E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.00021324	30	1
B	0.00015181	30	2
B	0.00014773	30	3

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 94

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPZN

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 75
Error Mean Square 1.508E-9
Critical Value of Studentized Range 3.38156
Minimum Significant Difference 24E-6

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.00021678	30	1
B	0.00018281	30	3
B	0.00017324	30	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 95

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPPB

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 75
Error Mean Square 2.406E-9
Critical Value of Studentized Range 3.38156
Minimum Significant Difference 303E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.00032890	30	1
B	0.00024875	30	3
B	0.00023999	30	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 96

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPCD

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 75
Error Mean Square 9.5E-11
Critical Value of Studentized Range 3.38156
Minimum Significant Difference 602E-8

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.00005806	30	1
B	0.00004990	30	3
C	0.00004295	30	2

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 97

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CONTPNI

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 75
Error Mean Square 1.788E-9
Critical Value of Studentized Range 3.38156
Minimum Significant Difference 261E-7

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	SUELO
A	0.00025329	30	1
B	0.00019392	30	3

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 98
The GLM Procedure

Level of	-----PESPLAN-----		-----CONTPCU-----		-----CONTPZN-----	
PP N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1 90	0.20988889	0.07675284	0.00017093	0.00012892	0.00019095	0.00010031

Level of	-----CONTPPB-----		-----CONTPCD-----		-----CONTPNI-----	
PP N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1 90	0.00027254	0.00016673	0.00005030	0.00001512	0.00021081	0.00011164

Level of	Level of	-----PESPLAN-----		-----CONTPCU-----		-----CONTPZN-----	
ESP	SUST N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	6	0.24833333	0.03868678	0.00001978	0.00000425	0.00036795
1	2	6	0.18333333	0.03326660	0.00001398	0.00000209	0.00020703
1	3	6	0.20666667	0.03265986	0.00001651	0.00000466	0.00025288
2	1	6	0.19666667	0.01505545	0.00017892	0.00001353	0.00016672
2	2	6	0.16333333	0.01861899	0.00012398	0.00001865	0.00011922
2	3	6	0.15166667	0.02401388	0.00007955	0.00001122	0.00008178
3	1	6	0.22333333	0.01861899	0.00025817	0.00001737	0.00017322
3	2	6	0.22833333	0.05192944	0.00013543	0.00003663	0.00014600
3	3	6	0.18666667	0.02160247	0.00016907	0.00003268	0.00016123
4	1	6	0.31166667	0.05810909	0.00039902	0.00007770	0.00026832
4	2	6	0.31833333	0.02228602	0.00035352	0.00003468	0.00024317
4	3	6	0.34000000	0.02529822	0.00038947	0.00003389	0.00037672
5	1	6	0.19500000	0.04593474	0.00021033	0.00004677	0.00010772
5	2	6	0.12166667	0.01329160	0.00013213	0.00001688	0.00002858
5	3	6	0.07333333	0.01032796	0.00008407	0.00001059	0.00004143

Level of	Level of	-----CONTPPB-----		-----CONTPCD-----		-----CONTPNI-----	
ESP	SUST N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	6	0.00013027	0.00002663	0.00006382	0.00001247	0.00023085
1	2	6	0.00008297	0.00001817	0.00004490	0.00000967	0.00016518
1	3	6	0.00012767	0.00002316	0.00005832	0.00001210	0.00020705
2	1	6	0.00036342	0.00003951	0.00005763	0.00000598	0.00028767
2	2	6	0.00032642	0.00005570	0.00004940	0.00000867	0.00032528
2	3	6	0.00026897	0.00004252	0.00006778	0.00000543	0.00026863
3	1	6	0.00035373	0.00004211	0.00004915	0.00000593	0.00012108
3	2	6	0.00014592	0.00003543	0.00004055	0.00001246	0.00013817
3	3	6	0.00013708	0.00001812	0.00004940	0.00000774	0.00018940
4	1	6	0.00049400	0.00011010	0.00005585	0.00001456	0.00049230
4	2	6	0.00051828	0.00005889	0.00004590	0.00000686	0.00020412
4	3	6	0.00058697	0.00004152	0.00005457	0.00000936	0.00024753
5	1	6	0.00030307	0.00008026	0.00006387	0.00001521	0.00013457
5	2	6	0.00012637	0.00002210	0.00003398	0.00000734	0.00009342
5	3	6	0.00012305	0.00002116	0.00001943	0.00000271	0.00005697

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 99
The GLM Procedure

Level of	Level of	-----PESPLAN-----		-----CONTPCU-----		-----CONTPZN-----	
ESP	PP N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	18	0.21277778	0.04295080	0.00001676	0.00000435	0.00027596
2	1	18	0.17055556	0.02689243	0.00012748	0.00004407	0.00012257
3	1	18	0.21277778	0.03738599	0.00018756	0.00006030	0.00016015
4	1	18	0.32333333	0.03850134	0.00038067	0.00005361	0.00029607
5	1	18	0.13000000	0.05790459	0.00014218	0.00006023	0.00009998

Level of	Level of	-----CONTPPB-----		-----CONTPCD-----		-----CONTPNI-----	
ESP	PP N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	18	0.00011363	0.00003102	0.00005568	0.00001353	0.00020103
2	1	18	0.00031960	0.00005918	0.00005827	0.00001006	0.00029386
3	1	18	0.00021224	0.00010770	0.00004637	0.00000957	0.00014955
4	1	18	0.00053308	0.00008206	0.00005211	0.00001107	0.00031465
5	1	18	0.00018416	0.00009827	0.00003909	0.00002117	0.00009498

Level of	Level of	-----PESPLAN-----		-----CONTPCU-----		-----CONTPZN-----	
SUST	PP N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	30	0.23500000	0.05673593	0.00021324	0.00013058	0.00021678
2	1	30	0.20300000	0.07409919	0.00015181	0.00011486	0.00017324
3	1	30	0.19166667	0.09123986	0.00014773	0.00013407	0.00018281

Level of	Level of	-----CONTPPB-----		-----CONTPCD-----		-----CONTPNI-----	
SUST	PP N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	30	0.00032890	0.00013495	0.00005806	0.00001212	0.00025329
2	1	30	0.00023999	0.00016930	0.00004295	0.00001011	0.00018523

3 1 30 0.00024875 0.00018295 0.00004990 0.00001829 0.00019392 0.00008030

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	1	6	0.24833333	0.03868678	0.00001978	0.00000425

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	1	6	0.00036795	0.00006635	0.00013027	0.00002663

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	1	6	0.00006382	0.00001247	0.00023085	0.00003746

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 100
The GLM Procedure

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	2	1	6	0.18333333	0.03326660	0.00001398	0.00000209
1	3	1	6	0.20666667	0.03265986	0.00001651	0.00000466
2	1	1	6	0.19666667	0.01505545	0.00017892	0.00001353
2	2	1	6	0.16333333	0.01861899	0.00012398	0.00001865
2	3	1	6	0.15166667	0.02401388	0.00007955	0.00001122
3	1	1	6	0.22333333	0.01861899	0.00025817	0.00001737
3	2	1	6	0.22833333	0.05192944	0.00013543	0.00003663
3	3	1	6	0.18666667	0.02160247	0.00016907	0.00003268
4	1	1	6	0.31166667	0.05810909	0.00039902	0.00007770
4	2	1	6	0.31833333	0.02228602	0.00035352	0.00003468
4	3	1	6	0.34000000	0.02529822	0.00038947	0.00003389
5	1	1	6	0.19500000	0.04593474	0.00021033	0.00004677
5	2	1	6	0.12166667	0.01329160	0.00013213	0.00001688
5	3	1	6	0.07333333	0.01032796	0.00008407	0.00001059

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	2	1	6	0.00020703	0.00004832	0.00008297	0.00001817
1	3	1	6	0.00025288	0.00004648	0.00012767	0.00002316
2	1	1	6	0.00016672	0.00001624	0.00036342	0.00003951
2	2	1	6	0.00011922	0.00001429	0.00032642	0.00005570
2	3	1	6	0.00008178	0.00001027	0.00026897	0.00004252
3	1	1	6	0.00017322	0.00001546	0.00035373	0.00004211
3	2	1	6	0.00014600	0.00003527	0.00014592	0.00003543
3	3	1	6	0.00016123	0.00001883	0.00013708	0.00001812
4	1	1	6	0.00026832	0.00005286	0.00049400	0.00011010
4	2	1	6	0.00024317	0.00003171	0.00051828	0.00005889
4	3	1	6	0.00037672	0.00007765	0.00058697	0.00004152
5	1	1	6	0.00010772	0.00002423	0.00030307	0.00008026
5	2	1	6	0.00015080	0.00002858	0.00012637	0.00002210
5	3	1	6	0.00004143	0.00000858	0.00012305	0.00002116

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	2	1	6	0.00004490	0.00000967	0.00016518	0.00003310
1	3	1	6	0.00005832	0.00001210	0.00020705	0.00003912
2	1	1	6	0.00005763	0.00000598	0.00028767	0.00001977
2	2	1	6	0.00004940	0.00000867	0.00032528	0.00005588
2	3	1	6	0.00006778	0.00000543	0.00026863	0.00003983
3	1	1	6	0.00004915	0.00000593	0.00012108	0.00000906
3	2	1	6	0.00004055	0.00001246	0.00013817	0.00003989
3	3	1	6	0.00004940	0.00000774	0.00018940	0.00002247
4	1	1	6	0.00005585	0.00001456	0.00049230	0.00011262
4	2	1	6	0.00004590	0.00000686	0.00020412	0.00002182
4	3	1	6	0.00005457	0.00000936	0.00024753	0.00002859

The SAS System 15:10 Saturday, March 26, 1994 101
The GLM Procedure

Level of ESP	Level of SUST	Level of PP	Level of N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
5	1	1	6	0.00006387	0.00001521	0.00013457	0.00003636
5	2	1	6	0.00003398	0.00000734	0.00009342	0.00001186
5	3	1	6	0.00001943	0.00000271	0.00005697	0.00000868

PROGRAMAS DE SAS USADOS:

PROC ANOVA;

```
CLASS ESP SUELO ORGAN;  
MODEL CONCCU CONCZN CONCPB CONCCD CONCNI=ESP SUELO ORGAN ESP*SUELO ESP*ORGAN SUELO*ORGAN ESP*SUELO*ORGAN;  
MEANS ESP SUELO ORGAN ESP*SUELO ESP*ORGAN SUELO*ORGAN ESP*SUELO*ORGAN/TUKEY LINES;  
RUN;
```

```
PROC ANOVA;  
CLASS ESP SUELO ORGAN;  
MODEL CONTCU CONTZN CONTPB CONTCO CONTNI=ESP SUELO ORGAN ESP*SUELO ESP*ORGAN SUELO*ORGAN ESP*SUELO*ORGAN;  
MEANS ESP SUELO ORGAN ESP*SUELO ESP*ORGAN SUELO*ORGAN ESP*SUELO*ORGAN/TUKEY LINES;  
RUN;
```

```
PROC GLM;  
CLASS ESP SUELO ORGAN;  
MODEL PESPLAN CONTPCU CONTPZN CONTPPB CONTPCD CONTPNI=ESP SUELO ORGAN ESP*SUELO ESP*ORGAN SUELO*ORGAN ESP*SUELO*ORGAN;  
MEANS ESP SUELO ORGAN ESP*SUELO ESP*ORGAN SUELO*ORGAN ESP*SUELO*ORGAN/TUKEY LINES;  
RUN;
```

**ANEXO III. Imágenes del proceso de investigación ESPECIES DE LEGUMINOSAS
COMO FITORREMEDIADORAS EN SUELOS CONTAMINADOS.**



Establecimiento y germinación de semillas de las cinco especies de leguminosas evaluadas en este trabajo.



Crecimiento de las plantas de cinco especies de leguminosas en sustratos con diferentes niveles de contaminación.

ANEXO IV. Resultados de la concentración de Cu, Zn, Pb, Cd y Ni en plantas de *Lupinus* sp creciendo en tres sustratos colectados a diferentes distancias de la fuente de contaminación (A=20, B=50 y C=100m) con un diseño completamente al azar con 5 repeticiones para los tres tratamientos aplicados bajo condiciones de invernadero.

Se llevo a cabo un experimento adicional en los invernadero del Colegio de Postgraduados con *Lupinus* sp para corroborar las tendencias y cantidades de metales pesados acumuladas en plantas de *L. versicolor*, *L. leptophyllus* y *L. montanus* estudiadas en esta tesis, teniendo un tiempo de duración de 80 días

Concentración de cinco metales (Cu, Zn, Pb, Cd y Ni) en planta completa de *Lupinus* sp en tres sustratos A=20m, B=50m y C=100m donde se muestran las concentraciones de metales pesados en plantas de *Lupinus* sp.

	Cu	Ni	Pb	Cd	Zn
	6.3	6.7	2.9	1.1	58
	6.1	7.9	1.3	1.8	63
A	55.4	6.6	3.7	1.3	76
	4.2	3	4.4	1.2	55
	53.1	5.7	6.1	0.8	74
	35.7	8.5	5.1	1.3	56
	4.2	3.3	2.6	0.9	51
B	11.2	9.8	4.5	1.6	60
	15.2	4.6	3.4	0.7	55
	5.4	3.9	0.6	0.9	57
	51.9	1.9	9.8	3.3	91
	0	21.2	24	3	101
C	21.4	4.3	11	2.4	62
	Trazas	Trazas	8.5	3	58
	0.2	4.6	36.4	2.8	90

Concentración de valores promedio de los cinco metales (Cu, Zn, Pb, Cd y Ni) en *Lupinus* sp. en tres sustratos A=20m, B=50m y C=100m.

Sustrato	Cu	Zn	Pb	Cd	Ni
A	25.02	65.2	3.68	1.24	5.98
B	14.34	55.8	3.24	1.08	6.02
C	14.7	80.4	17.9	2.9	6.4

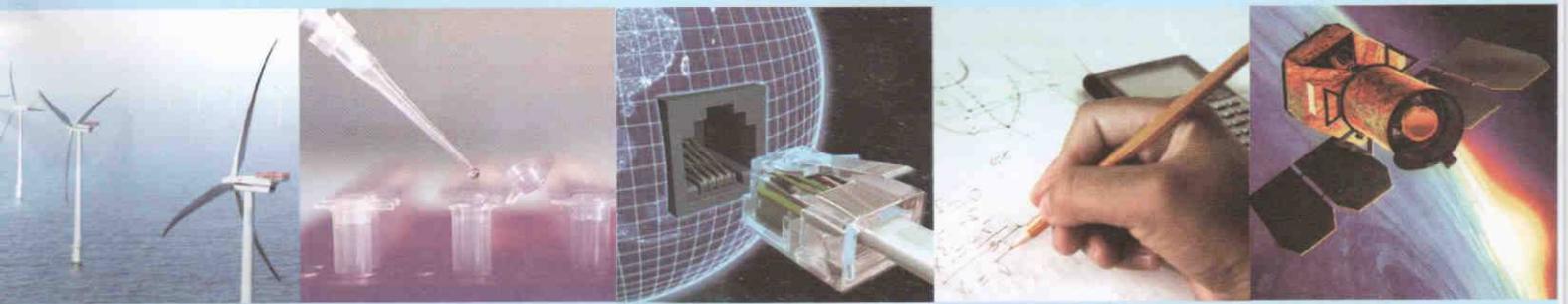
Análisis de varianza para concentración de cinco metales (Cu, Zn, Pb, Cd y Ni) en *Lupinus* sp mostrando que para la concentración de los cinco metales, no existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos.

FV	GL	SC	CM	F	$p < 0.05$
Especie	1	11.26812	0.704257	0.817847	0.654620
Error	6	5.166667	0.861111		
Total	7				

ANEXO V. Artículo publicado como parte de los alcances de esta investigación.

ISSN 1812-5654

Journal of
**Applied
Sciences**



ANSI*net*

308 Lasani Town, Sargodha Road, Faisalabad - Pakistan
Tel: 0092 300 6661982, Fax: 0092 41 8815544, E-mail: support@scialert.com

***Lupinus versicolor* Response in Soils Contaminated with Heavy Metals From a Petroleum Extraction Field**

¹N. De la Cruz-Landero, ¹V.E. Hernandez, ²E. Guevara, ¹M.A. López-López,
¹A.T. Santos, ¹E. Ojeda-Trejo and ²A. Alderete-Chavez

¹Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas,

Km 36.5 Carr Mex-Textcoco, Mexico C.P. 56230, México

²Universidad Autonoma del Carmen calle 56 No. 4 Carmen, Campeche C.P. 24180, Mexico

Abstract: Phytoremediation uses the survival capacity of certain plant species in environments contaminated with heavy metals to extract such metals. The objective of this study was to evaluate the response of *Lupinus versicolor* as a biological agent in soils contaminated with Cu, Pb, Cd, Ni and Zn. The present study was conducted in a greenhouse. The experimental design was a completely randomized block with 6 replications. Results showed that the plants accumulated as much as 0.12 mg kg⁻¹ of Cu within foliage, 0.94 mg kg⁻¹ of Pb within stems, 0.31 mg kg⁻¹ of Cd within stems, 1.03 mg kg⁻¹ of Ni within stems and 2.46 mg kg⁻¹ of Zn within the leaves, being these values higher than those found by other researchers. In this experiment, favorable results were obtained for the accumulation of Cd in the leaves, Ni in the stems and Cu in the roots. Therefore, based on the results obtained, *L. versicolor* is a plant that can be considered as a good alternative for removing heavy metals in contaminated soils and for the phytostabilization and revegetation of contaminated soils.

Key words: *Lupinus*, soils, heavy metals, phytoremediation

INTRODUCTION

The wide spread heavy metal contamination poses long-term risks to environmental quality and sustainable food production (Weckx and Clijsters, 1996). Oil extraction processes and spills contaminate air surrounding wells, causing severe damages to the atmosphere and producing ground contamination. This is a problem that frequently occurs in Mexico, causing physical alterations and changes in the structure of the soil and contamination by heavy metals since most of the components of petroleum are relatively insoluble, accumulating within the ground (Assmuth and Strandberg, 1993). Contamination with petroleum is characterized by its persistence in the ecosystem, in spite of natural and/or anthropogenic degradation processes to which it may be subjected (Nadal *et al.*, 2004). In the same way, it produces a series of harmful wastes which are soil contaminants. Among these are toxic components like lead, mercury, arsenic, selenium, cadmium, nickel, copper and zinc (Bizily *et al.*, 2000).

The excess of heavy metals and metalloids released from mine tailings may cause severe damage to ecosystems including plants, animals, micro-organisms and human health. Uncontrolled mining activities can

generate a large amount of particulate emissions and waste containing heavy metals and metalloids that can contaminate the surroundings-soil, water and air. Such effects may be particularly serious and may pose a severe ecological and human health risk when mining activities are located in the vicinity of urban environments. Therefore, it is necessary to minimize or mitigate the impacts of resource utilization to the extent reasonably feasible (Nazmul *et al.*, 2009).

Remediation of contaminated soil is possible by amending such soils with agricultural materials, as soil metals are adsorbed onto the amendment materials, immobilizing such metals and thus, reducing their soil and plant availability (Clemente *et al.*, 2005).

Bioremediation is one of the most economic alternatives for soil and aquifer restoration (Schwartz *et al.*, 2003; Zhao *et al.*, 2003). This technique includes phytoremediation which uses the capacity of certain plant species to survive in environments contaminated with heavy metals and organic substances while extracting, accumulating and immobilizing or transforming the contaminants (Clemente *et al.*, 2005; Menzies *et al.*, 2007) by altering its molecular structure (Keller *et al.*, 2003). It is for this reason that phytoremediation is a natural, clean and economic

alternative treatment to other physical and chemical processes which are more invasive to soil recuperation (Wenzel *et al.*, 2003). Thus, phytoremediation, technique using plant to remove contamination from soil, has become a topical research field in the last decade as it is safe and potentially cheap compared to traditional remediation techniques (Eshan *et al.*, 2009; Luo *et al.*, 2008).

One of the plant groups used in phytoremediation includes legumes, which fix nitrogen, improve soil fertility and help other plant species colonize the site (Vazquez *et al.*, 2006). The importance of legumes is not only deals with the biological fertilization it carries out, but it goes way beyond. In fact, legumes comprise the most used plant group by man, only exceeded by grains (Pastor *et al.*, 2003).

In this study, the potential of *Lupinus versicolor* to improve degraded soils was analyzed provided that it grows along roadsides and in degraded forests. Since, the biological processes that are frequently applied to the treatment of soils contaminated with hydrocarbons is under investigation, the capacity of *Lupinus versicolor* as a biological agent for phytoremediation of soil contaminated by hydrocarbons and its capacity to extract heavy metals were explored.

MATERIALS AND METHODS

The present study was carried out under greenhouse conditions from February to April of 2008. The temperature in the greenhouse ranged from 33-44°C during daytime and from 12-19°C during nighttime. The contaminated soil used was collected at a petroleum field in Tabasco State, Mexico. *Lupinus versicolor* seeds were obtained from the Tláloc Mountain, in the Nevada Mountain Range, within the municipality of Texcoco, State of Mexico, at 3016 m.a.s.l., on slopes of 25-45%, 19° 26' 21.8'' N and 98° 45' 43'' W (Alderete *et al.*, 2008).

Pots with a capacity of 4 kg were filled with the soils, including their respective controls. Soil samples were dried and sifted through a wire 2 mm mesh and in the laboratory the following properties were determined: bulk density by the test tube method, soil texture by Boyoucus, pH using a potentiometer in a soil-water ratio of 1:2. Subsequently, the total content of Cu, Zn, Pb, Ni and Cd was determined using the DTPA extractor solution 0.005 M-TEA 0.1 M-CaCl₂ 0.01 M along with the physical and chemical properties (Table 1). Under greenhouse conditions ten seeds of *L. versicolor* were placed in each pot. Pots were irrigated every other day with tap water. The experimental design used was a complete randomized blocks one with six replications.

Table 1: Physicochemical characteristics of the control and contaminated soil

Characteristics	Control	Contaminated
Sand (%)	43	45
Loam (%)	36	40
Clay (%)	21	15
Textural class	F	F
Gravimetric moisture	6.6	5.5
Field capacity (%)	35.6	34.6
Permanent wilting point (pwp)	16.7	16.6
Electrical (C. Sm ⁻¹)	2.50	3.95
Hydraulic (C. Cm h ⁻¹)	0.79	1.76
Saturation P (%)	66.7	71.1
Bulk density (g cm ⁻³)	1.15	1.14
Real density (g cm ⁻³)	2.28	2.36
1:2 pH	6.16	6.29
Cu (mg kg ⁻¹)	480	660
Zn (mg kg ⁻¹)	1400	2200
Pb (mg kg ⁻¹)	300	1560
Cd (mg kg ⁻¹)	120	140
Ni (mg kg ⁻¹)	580	680

The experiment lasted 80 days following the emergence of the first plants. At the end of the experiment, plants were uprooted and washed, firstly with tap water and then with distilled water. Thereafter, plants were separated into roots, stems and leaves to determine fresh weight. Then, plant parts were placed in paper bags and dried in a heat cabinet at 70°C for 72 h to determine the dry weights. Plant tissues were then sent to the laboratory for chemical analyses.

The determination of Cu, Zn, Cd, Pb and Ni from roots, stem and leave extracts of *L. versicolor*, was done by the wet digestion method (Ussiri and Rattan, 2008). Readings were made using an automatic absorption spectrophotometer Pekin-Elmer, 3110 and element concentrations were given on dry matter basis.

The experimental design used was completely randomized blocks with six replications. The SAS (2003) program for microcomputers, was employed to conduct the ANOVA test (Proc Mixed) and mean comparisons (significant minimum difference) also, with the SAS program. The treatments were considered as fixed effects, the blocks as random effects.

RESULTS

The plants grown in contaminated soils extracted Cu in dry matter at concentration of 0.12 mg kg⁻¹ in leaves, followed by stems with 0.08 mg kg⁻¹ and roots, with 0.05 mg kg⁻¹, respectively. In the control plants, Cu extracted in the leaves 0.04 mg kg⁻¹, followed by the stems with a concentration of 0.03 mg kg⁻¹ and the roots with 0.01 mg kg⁻¹ (Fig. 1).

In the case of Zn extraction, the highest accumulation in the plants under treatment was in the leaves with 2.46 mg kg⁻¹, followed by the roots with 0.81 and 0.7 mg kg⁻¹ in the stem. In the control plants, the

Table 2: ANOVA heavy metals in roots, stems and leaves of *L. versicolor* growing in contaminated soil

Variables	SS effect	df effect	MS effect	SS error	df error	MS error	F-value	p-value
Metal	18.603	4	4.6507	24.875	175	0.1421	32.718	0.000
Plant parts	1.2224	2	0.6112	42.256	177	0.2387	2.5602	0.080
Soil	5.1928	1	5.1928	38.286	178	0.2150	24.142	0.000

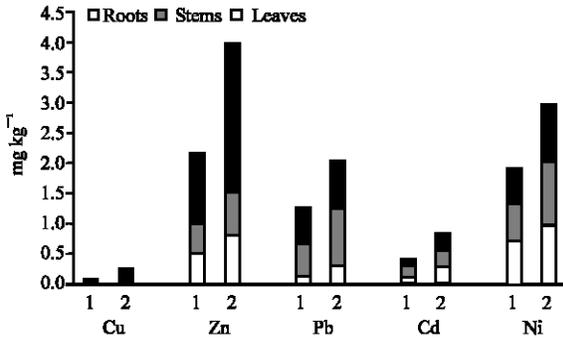


Fig. 1: Concentrations of heavy metals in *L. versicolor* tissues growing in contaminated soil compared with control. 1: control plants, 2: treatment

highest extraction of Zn was 1.18 mg kg⁻¹ occurring within the leaves, followed by 0.48 mg kg⁻¹ in the stem and 0.05 mg kg⁻¹ in the roots (Fig. 1).

The highest extraction of Pb in plants from contaminated soil occurred within stems with 0.94 mg kg⁻¹, followed by the leaves with 0.78 mg kg⁻¹ and the roots with 0.31 mg kg⁻¹. In this case in the control plants the leaves had the highest Pb accumulation with 0.61 mg kg⁻¹, followed by the stem with 0.53 mg kg⁻¹ and the root with 0.13 mg kg⁻¹ (Fig. 1).

In plants under treatment, the highest Cd extraction of 0.31 mg kg⁻¹ occurred in the stems, followed by the roots with 0.28 mg kg⁻¹ and the leaves with 0.25 mg kg⁻¹. In the control plants the leaves showed the highest extraction reaching 0.12 mg kg⁻¹, while the stems had 0.17 mg kg⁻¹ and the roots 0.13 mg kg⁻¹ which represent 28.6, 40.5 and 30.9%, respectively (Fig. 1).

In the case of Ni, the highest extraction was found in the stem with 1.03 mg kg⁻¹, followed by the roots with 0.98 mg kg⁻¹ and the leaves with 0.96 mg kg⁻¹ in plants from accumulated soil. In the control plants Ni was accumulated mostly in the roots, with 0.7 mg kg⁻¹, followed by the stem with 0.63 and 0.56 mg kg⁻¹ in the leaves (Fig. 1). According to the analysis of variance for these heavy metals significant differences were found p<0.05 (Table 2).

DISCUSSION

Results similar to the ones found in this study were reported for *Pergularia tormentosa* by Al-Farraj and Al-Wabel (2007). This indicates that this specie

accumulates high concentrations of Cd, Cu, Pb and Zn in its tissues when grown in natural conditions in contaminated soils. This is due to the fact that these elements are moderately transposable and they are absorbed only if available (Alonso *et al.*, 2002).

Chaney *et al.* (2004) reported Pb, Cd and Zn concentrations in leaves of vegetables cultivated in contaminated soils, which indicated that when grown in contaminated soils, the ecotype *Lanestosa* of the hyper accumulative species *Thlaspi caerulescens* accumulated Zn in the stem and not in the leaves given that this element is easily transposable to the plant (McGrath *et al.*, 2006).

Martinez *et al.* (2006) reported that species of the genus *Thlaspi* and *Amaranthus retroflexus* have the capacity to accumulate Pb in their vegetative structures roots. According to Grill *et al.* (1985), this may be due to the low mobility of Pb, when it is found in low quantities in the soil, given that the root systems prevents the migration of Pb towards the above ground part of the plant and it only reaches this part if it is found in high concentrations.

Ehsan *et al.* (2007, 2009) reported the accumulation of Cd in *Lupinus uncinatus* under hydroponic conditions. According to Chaney *et al.* (2004), this element is easily absorbed by the roots and can be easily transposed to the entire plant. This also, depends on the age and origin of the plant.

Ghaderian *et al.* (2007) reported that *Alyssum bracteatum* has the capacity to accumulate Ni in certain parts of the plant. Li *et al.* (2003) obtained similar results in two selected species of *Alyssum* sp. and found that they accumulate Ni in the leaves bud and not in the stems. This is because Ni is rapidly absorbed by the roots and can be accumulated in high concentrations in different parts of the plant.

According to the results obtained in this study, the metals Cu, Pb and Zn were found in concentrations within the acceptable ranges (10.9±0.0, 3.5±0.20, 26.9±1.2, respectively). The Cd and Ni surpassed the permissible limits (0.175±0.027 and 2.88±0.38, respectively) which contradicts the findings of Ghaderian *et al.* (2007).

CONCLUSION

Based on the results of this study *Lupinus versicolor* is a plant which can be considered for extracting heavy metals and can be utilized for the phytostabilization and

revegetation of contaminated soils, specifically with Cd, Ni and Cu. In this experiment, favorable results were obtained for the accumulation of Cd in the leaves and Ni in the stem. Cu extracted within the roots was significantly higher with respect to the control plant, surpassing the permissible critical limits. However, further research is vital for comprehensive understanding of the mechanisms involved in the response functions of the *L. versicolor* to heavy metals stress.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors tanks the National Science and Technology Council for granting the scholarship number 165039 and without whose financing the research would not have been possible.

REFERENCES

- Al-Farraj, A.S. and M.I. Al-Wabel, 2007. Heavy metals accumulation of some plant species grown on mining area at mahad AD'Dahab, Saudi Arabia. *J. Applied Sci.*, 7: 1170-1175.
- Alderete, A.C., V.E. Hernandez, E.O. Trejo, M. Ehsan and J.P. Moreno *et al.*, 2008. Natural distribution and principal characteristics of *Lupinus* in the oriental face of Tlaloc Mountain in Sierra Nevada, Mexico. *J. Boil. Sci.*, 8: 604-609.
- Alonso, E., M. Callejón, J.C. Jiménez and M. Ternero, 2002. Heavy metal extractable forms in sludge from wastewater treatment plants. *Chemosphere*, 47: 765-775.
- Assmuth, T.W. and T. Strandberg, 1993. Ground water contamination at finnish landfills. *Water Air Soil Pollut.*, 69: 179-199.
- Bizily, S.P., C.L. Rugh and R.B. Meagher, 2000. Phytodetoxification of hazardous organomercurials by genetically engineered plants. *Nat. Biotechnol.*, 18: 213-217.
- Chaney, R.L., P.G. Reeves, J.A. Ryan, R.W. Simmons, R.M. Welch and J.S. Angle, 2004. An improved understanding of soil Cd risk to humans and low cost methods to phytoextract Cd from contaminated soils to prevent soil Cd risks. *BioMetals*, 17: 549-553.
- Clemente, R., D.J. Walker and M.P. Bernal, 2005. Uptake of heavy metals and As by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in Aznalcóllar (Spain): The effect of soil amendments. *Environ. Pollut.*, 138: 46-58.
- Ehsan, M., P.A. Molumeli, V.E. Hernandez, A.B. Reyes and J.P. Moreno *et al.*, 2007. Contamination time effect on plant available fractions of cadmium and Zinc in a mexican clay loam soil. *J. Applied Sci.*, 7: 2380-2384.
- Ehsan, M., K. Santamaria-Delgado, A. Vázquez-Alarcón, A. Alderete-Chavez, N. Dela Cruz-Landero, D. Jaén-Contreras and P. Augustine Molumeli, 2009. Phytostabilization of cadmium contaminated soils by *Lupinus uncinatus* schldl. *Spanish J. Agric. Res.*, 7: 390-397.
- Ghaderian, M., A. Mohtadi, M.R. Rahiminejad and A.J.M. Baker, 2007. Nickel and other metal uptake and accumulation by species of *Alyssum* (Brassicaceae) from the ultramafics of Iran. *Environ. Pollut.*, 145: 293-298.
- Grill, E., E.L. Winnacker and M.H. Zenk, 1985. Phytochelatins: The principal heavy-metal complexing peptides of higher plants. *Sciences*, 230: 674-676.
- Keller, C., D. Hammer, A. Kayser, W. Richner, M. Brodbeck and M. Sennhauser, 2003. Root development and heavy metal phytoextraction efficiency comparison of different plant species in the field. *Plant Soil*, 249: 67-81.
- Li, Y.M., R.L. Chaney, E.P. Brewer, J.S. Angle and J. Nelkin, 2003. Phytoextraction of nickel and cobalt by hyperaccumulator *Alyssum* species grown on nickel-contaminated soils. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 1463-1468.
- Luo, L.Ch., Z.G. Chen and X.D. Li, 2008. Root exudates increase metal accumulation mixed cultures: Implications for naturally enhanced phytoextraction. *Water Air Soil Pollut.*, 193: 147-154.
- Martinez, M., P. Bernal, C. Almela, D. Vélez, P. Garcia-Agustín, R. Serrano and J. Navarro-Aviñó, 2006. An engineered plant that accumulates higher levels of heavy metals than *Thlaspi caerulescens*, with yields of 100 times more biomass in mine soils. *Chemosphere*, 64: 478-485.
- McGrath, S.P., E. Lombi, C.W. Gray, N. Caille, S.J. Dunham and F.J. Zhao, 2006. Field evaluation of Cd and Zn phytoextraction potential by the hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri*. *Environ. Pollut.*, 141: 115-125.
- Menzies, N.W., M.J. Donn and P.M. Kopittke, 2007. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils. *Environ Pollut.*, 145: 121-130.
- Nadal, M., M. Schuhmacher and J.L. Domingo, 2004. Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona County, Spain. *Environ. Pollut.*, 132: 1-11.
- Nazmul, H., J.R. Peralta-Videa, G.L. Jones, T.E. Gill and J.L. Gardea-Torresdey, 2009. Screening the phytoremediation potential of desert broom (*Baccharis sarothroides* Gray) growing on mine tailings in Arizona, USA. *Environ Pollut.*, 153: 362-368.

- Pastor, J., A.J. Hernandez, N. Prieto and M.F. Pascal, 2003. Accumulating behaviour of *Lupinus albus* L. growing in a normal and a decalcified calcic luvisol polluted with Zn. *J. Plant. Physiol.*, 160: 1457-1465.
- SAS, 2003. SAS/STAT Users Guide. 8th Edn., Statistical Analysis Institute Inc., Cary North, Carolina.
- Schwartz, C., G. Echevarria and J.L. Morel, 2003. Phytoextraction of Cd with *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil*, 249: 27-35.
- Ussiri, A.N.D. and L. Rattan, 2008. Method for determining coal carbon in the reclaimed minesoils contaminated with coal. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 72: 231-237.
- Vazquez, S., R. Agha, A. Granado, M.J. Sarro, E. Esteban, J.M. Peñalosa and R.O. Carpena, 2006. Use of white lupin plant for phytostabilization of Cd and As polluted acid soil. *Water Air Soil Pollut.*, 177: 349-365.
- Weckx, J.E.J. and H.M.M. Clijsters, 1996. Oxidative damage and defense mechanisms in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* as a result of root assimilation of toxic amounts of copper. *Physiol. Plant.*, 96: 506-512.
- Wenzel, W.W., R. Unterbrunner, P. Sommer and P. Sacco, 2003. Chelate-assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L.) in outdoors pot and field-lysimeter experiments. *Plant Soil*, 249: 83-96.
- Zhao, F.J., E. Lombi and S.P. McGrath, 2003. Assessing the potential for zinc and cadmium phytoextraction with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil*, 249: 37-43.